

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahleb Blida 1.



Faculté Des Sciences de la nature et de la vie
Département des Biotechnologies

MEMOIRE EN VUE DE L'OPTENTION DU MASTER

**Option : Biotechnologie des plantes Médicinales et Aromatiques et produits
naturelles**

Thème

**Contribution a l'étude chimique et l'évaluation de quelques activités
biologiques de l'extrait ethanologique de la propolis de la région de la Mitidja.**

Présenté par : M^{elle} TERKI Meriem

Soutenu devant le jury composé de :

Mdm. ALLAL L.	MCB	Présidente
Mdm. CHEBATA N.	MAA	Examinatrice
Mdm. BELGUENDOZ R.	Dr.	Promotrice
Ms. BOUHAREB	Dr.	Co-promoteur

Année universitaire 2015-2016

Remerciement

Tout d'abord, je ne peux oublier de remercier le bon Dieu de m'avoir donné la foi ; la sagesse et le courage pour accomplir ce modeste travail. Je m'incline humblement devant sa bonté.

*Mes sincères remerciements vont à **Mdm. ALLAL L.**, MCB à l'Université de Blida 1, de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury et pour son aide précieuse et ses orientations.*

*A **Mdm. CHABATA N. MAA** à l'Université de Blida 1, à qui j'exprime mes sincères remerciements pour avoir accepté de participer à ce jury et d'accepter de juger ce travail*

*A **Mme Belguendouz R.** Dr. et Chargée de cours à l'Université de Blida 1, à qui j'exprime toute ma gratitude, ma plus profonde reconnaissance et mes sincères remerciements pour avoir accepté de diriger ce travail ainsi que pour ses précieux conseils et son soutien.*

*Je tiens à remercier aussi, **Dr. Bouchareb**, pour sa fourniture des échantillons de propolis étudiés, ses conseils, ses discussions enrichissantes, ses orientations et ses encouragements.*

*Je remercie particulièrement **Mr. A. Bendali.**, pour m'avoir facilité les procédures administratives durant la réalisation de mon projet.*

*Nous remercions énormément **Ms. TEFFAHI Djamel** qui m'a permis d'effectuer toutes les analyses de microbiologie au niveau du Laboratoire D'Hygiène de Blida.*

*Je tiens également à exprimer mes vifs remerciements à toute l'équipe du Laboratoire Physico-chimie ainsi le département de Toxicologie du Soidal Médéa surtout **Imen** et Mon frère **Fouad**.*

Je présente mes chaleureux remerciements aux enseignants du département de biotechnologie pour leur aide et leur orientation durant notre formation.

Je tiens à remercier également tous mes camarades, et surtout les post-Graduants BPAM, promotion 2016.

Dédicaces

Je dédie ce travail à l'esprit de mon chère Père & à ma jolie Mère; qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout le long de mes études.

À ma sœur Lila, Mes frères Abdelouaheb et Mustafa.

À ma nièce Sibelle

À mes chères amis Nadia et Collins, Merci pour votre amitié fidèle.

Mes jolies camarades,

Soumia₁, Soumia₂, Lilia, Nesrine, Rihana, Ibtissem et bien surtout Soundous

Merci pour votre soutien durant tout notre cursus, de m'avoir encouragé.

Merci pour avoir partagé les cours, les sandwiches, les bancs de la fac avec moi. Merci d'avoir partagé ces inoubliables moments ...

Nous allons pouvoir fêter cela tous ensemble.

Un jour je ferai une fête pour vous !

... Merci

À toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de cette thèse.

Résumé

La présente étude porte sur l'évaluation de quelques activités biologiques de la propolis locale issue de la Mitidja dans le but de sa valorisation. Pour cela une étude chimique de l'échantillon de propolis, ainsi que l'évaluation de l'activité anti-oxydante, antimicrobienne et anti-inflammatoire ont fait l'objet de cette recherche. Le test de screening chimique montre l'existence des métabolites suivants : Les sucres et les saponosides semblent avoir une présence dans notre échantillon ainsi que les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes ont montré leur présence. La macération dans l'éthanol absolu a donné un rendement de 56,64 %. La teneur en polyphénols totaux a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, qui a donné une teneur de 4,33 mg EAC/g Ps. Les flavonoïdes ont donné par la méthode du chlorure d'aluminium $AlCl_3$ une teneur de 2,80 mg EQ/g Ps. L'activité antioxydante réalisée par le DPPH montre une concentration inhibitrice 50% de l'ordre de $0,3174 \pm 0,0014$ mg/ml qui est considéré comme important en comparant avec celle de la Vitamine C de l'ordre de 0,103 mg/ml. L'activité antimicrobienne étudiée sur quatre souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*) et trois champignons (*Candida albicans*, *Aspergillus sp*, *Saccharomyces servicia*) selon la méthode de diffusion sur milieu solide, présente aucun pouvoir antimicrobien sur toutes les souches sauf pour le *Bacillus subtilis* pour les doses 10mg/ml et 5mg/ml avec un diamètre de 12mm. Pour l'activité anti-inflammatoire, les résultats de réduction de l'œdème de notre extrait (20,78%) ont été comparés à ceux de Declofinac (39,18%).

Mots clés : Propolis locale, Extraction, Screening, Polyphénols, Flavonoïdes, Activités biologiques.

Abstract

The aim of this study is the Evaluation of Biological activities of the local propolis of Mitidja region. In the objective of its evaluation the samples of Mitidja propolis, were analyzed, the chemical properties, evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activities were assessed to start this action. The phytochemical screening test showed the existence of those compositions: sugars and saponosides had an important presence, flavonoids, tannins and alkaloids less important presence. Our propolis was subjected to maceration in absolute ethanol, the yields was 56,64 %, Total phenolic contents were determined using Folin-Ciocalteu reagent, the result giving is 4,33 mg EAC/g Ps. Flavonoids were evaluated by $AlCl_3$ method, the result giving is 2,80 mg EQ/g Ps. Antioxidant activity was evaluated using Free radical scavenging effects were evaluated using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH.), The 50 percent inhibitory concentration for DPPH, show $0,3174 \pm 0,0014$ mg/ml. which is considered as important comparing to that of Vitamin C with 0,103 mg/ml. The antimicrobial sensitivity of the our extract towards four bacterial strains and three fungi strains was assessed, the antimicrobial potential was negative on all the strains given except for *Bacillus subtilis* for two concentration 10 and 5 mg/ml with an inhibitory zone of 12mm. the Anti-inflammatory activity of our extract. The results of the edema reduction of our extract obtained are (20,78%) were compared to those of Declofinac of Na (39,18%).

Keywords: Local Propolis, Extraction, Screening, Polyphenols, Flavonoids, Biological activities.

المخلص

تركز هذه الدراسة على تقييم بعض الأنشطة البيولوجية لمادة العكبر *la propolis* لمنطقة المتيجة و ذلك لغرض تقييمها باجراء الدراسة الكيميائية ، فضلا عن تقييم نشاط مضادات الأكسدة، و مضادات الميكروبات والالتهابات التي هي موضوع هذا البحث. أظهر الفحص الكيميائي وجود نواتج التالية: السكريات والصابونين وكذلك فلافونيدات والتانين و الالكلوويدات. و قد نتج عن النقع فى الايثانول عائد 56,64%. محتوى مجموع البوليفينول تتحدد باستخدام-Folin Ciocalteu والتي قدرت ب: 33 mg EAC/g Ps , اما فئة Flavonoids فقد أعطت بطريقة AICI كلوريد الالومنيوم عائد قدره 2,80 mg EQ/g Ps اما النشاط المضاد للاكسدة فاستعملنا DPPH التي أظهرت تركيز مثبت مهم بقيمة 50 % ($0,3174 \pm 0,0014$ mg/ml) بمقارنة مع فيتامين ج من 0,103 / mg مل. درس النشاط البكتيري على أربعة أنواع من البكتريا (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*) وثلاثة الفطريات (*Candida albicans*, *Aspergillus sp*, *Saccaromices servicia*) وذلك باستعمال أسلوب النشر على وسط صلب و النتيجة أظهرت عدم وجود أي نتجة مضادة للميكروبات على كل سلالات باستثناء *suptilus* العسوية لجرعات 10 ملغ / مل و 5mg / مل مع قطر MM12. النشاط المضاد للالتهابات للمادة المدروسة اظهرت نتيجة تحفيض من عينات المحلول (20.78%) و تمت مقارنة النتائج مع Declofinac (39.18%).

الكلمات المفتاحية: العكبر, مضادات الأكسدة, مضادات الميكروبات, مضادات للالتهابات, البوليفينول.

Chaque plante, chaque animal, joue un rôle précis dont l'effet est bénéfique à l'ensemble des vivants (**Tournert 2007**). Depuis l'aube des temps, l'Homme a toujours été intéressé par la nature qui l'entourait. Il a su tirer partie des ressources naturelles pour s'adapter à son environnement et ainsi évoluer, créant la domestication et l'agriculture. Parmi les espèces animales domestiquées, il en est une particulièrement exceptionnelle : l'abeille. Les vertus de ce petit insecte ont tout de suite séduit la curiosité humaine et depuis les temps les plus reculés, l'Homme a su profiter des produits de la ruche (**Gharbi 2011**), miel, propolis, pollen, pain d'abeille, cire, gelée royale et venin, tous nous ont montré au fil des études et des observations qu'ils pouvaient contribuer au bien-être et à l'amélioration de la qualité de vie de l'homme et de l'animal. (**Tournert 2007**)

Ces produits de la ruche, sources illimitées de remèdes, méritent toute notre attention. L'étude scientifique des produits de la ruche, utilisés à des fins médicales ne s'est développée que récemment (**Gharbi 2011**). L'apithérapie est l'une des méthodes de soin naturelle. Elle est basée sur l'exploitation des produits de la ruche dont les premières traces de cette science remontent à l'Egypte antique. Cette pratique millénaire est mentionnée dans de nombreux écrits. On retrouve les traces d'utilisation du miel qui fut l'ingrédient le plus utilisé dans la phytothérapie. Des recherches plus poussées ont permis aux égyptologues de découvrir les traces d'utilisation d'un autre produit apicole : **la propolis**.

Ce produit est donc utilisée en médecine populaire depuis les temps les plus reculent. Ces dernières années de nombreux travaux ce sont intéressés a la composition chimique et aux effets biologiques de cette substance. Ces travaux ont montré que cette substance est composée essentiellement de flavonoïdes. Cette composition varie en fonction de son origine, de l'espèce d'abeille et du temps de la récolte. On lui reconnait de nombreuses propriétés : antibactérienne (**Ghisalberti 1979, Velikova et al 2000**), antivirale (**Dimov et al 1991, Murad et al 2002**), anti-inflammatoire (**Miyataka et al 1997**), anti-oxydante, anticancéreuse (**Burdock 1998**) ...etc. Son efficacité, une fois prouvée, lui value un intérêt particulier par l'ensemble des chimistes, biochimistes, pharmacologues..., qui essaie d'identifier de nouveaux principes actifs susceptibles d'être utilisés en thérapeutique (**Segueni N., 2011**).

Ceci nous a incités à poursuivre ces effort accomplit par les précédents chercheurs par un travail visant l'étude de la propolis locale Algérienne, précieuse mais méconnue malgré l'existence de 250000 ruches a l'échelle nationale, avec un déficit de 25 tonne de propolis par

an (**Bouchareb D., 1996**) équivalant de plusieurs millions de dinars algérien. Ceci est imputé à l'orientation gouvernementale du développement économique et aux techniques de production inadéquates et le manque de formation dans le domaine.

Dans ce mémoire et en partie bibliographique, nous avons abordé tout d'abord une approche générale sur le monde des abeilles, sa relation avec la pollinisation et la production de la propolis. Ensuite, des généralités sur la propolis approfondie qui nous mènera à découvrir sa composition et les fondements de son action. Dans la partie expérimentale, **les méthodes et matériel** utilisés sont illustrés suivi de la présentation **des résultats** obtenus et discussion qui sont amplement élaborés pour en fin terminer par une conclusion.

Figure 1 : des abeilles dans la ruche entrain de sucer du miel.....p03

Figure 2 : la danse des abeilles, moyen de communication.....p05

Figure 3 : une image pris de la tête d'une abeille de près a l'intérieur de la ruche.....p06

Figure 4 : les trois castes structurent la société des abeilles..... p07

Figure 5 : Une abeille qui entrain de polliniser une fleur.....p08

Figure 6 : Des abeilles fabriquent le nectar de miel..... p10

Figure 7 : La récolte du pollen par une ouvrière.....p11

Figure 08 : miellat.....p12

Figure 09 : Propolis dépôt sur cadres.....p12

Figure 10 : Propolis, dépôt sur cadres.....p14

Figure 11 : une photo pris qui present du pres les baskets d'une ouvrière.....p18

Figure 12 : une grille à propolis posé sur les hausses.....p19

Figure 13 : les étapes de la purification de la propolis brute.....Annexe I

Figure 14 : les différentes étapes de la Macération..... Annexe II

Figure 15 : Courbe d'étalonnage des polyphénols..... Annexe III

Figure 16 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes..... Annexe III

Figure 17 : réduction du radical libre DPPH en DPPHH.....p33

Figure 18 : les dilutions préparées d'extrait à partir de différent concentrations.....Annexe IV

Figure 19 : les souches microbiennes conservées..... ..Annexe V

Figure 20 : Illustration des différentes étapes de l'activité antimicrobienne..... Annexe V

Figure 21: Illustration des différentes étapes de l'activité anti-inflammatoire..... Annexe VI

Figure 22 : variation de l'activité de piégeages du radical libre DPPH en fonction de la variation de la concentration de l'antioxydant de référence.....Annexe IX

Figure 23 : variation de l'activité de piégeages du radical libre DPPH en fonction de la variation de la concentration de l'extrait éthanolique de propolis.....Annexe IX

Figure 24 : Les résultats de l'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques de la propolis pour chaque souche microbienne.....Annexe XIII

Figure 25 : La moyenne des poids des pattes gauches et droites pour les trois lots.....Annexe XIV

Figure 26 : Le pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème.....Annexe XV

Tableau 1: Origine et références des souches testées.....p28

Tableau 2: le diagramme pour l'extraction utilisant des mesures métrique.....Annexe I

Tableau 3 : Préparation des dilutions de l'acide gallique pour la réalisation de la courbe standard des polyphénols totaux.....Annexe II

Tableau 4 : Préparation de la courbe d'étalonnage des flavonoïdes.....Annexe III

Tableau 5 : concentration de la solution mère, différentes concentrations des dilutions préparés pour l'activité antioxydante.....Annexe IV

Tableau 6 : le résultat obtenu de screening chimique de notre extrait.....Annexe VI

Tableau 7 : Pourcentage d'extrait de propolis obtenup47

Tableau 8 : Test de l'activité de piégeage du radical libre DPPH à 517 nm par notre extrait.....Annexe VIII

Tableau 9 : test de l'activité de piégeage du radical libre DPPH à 517 nm des solutions de références vitamine C.....Annexe VIII

Tableau 10 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits éthanoliques de la propolis pour chaque souche microbienne.....Annexe X

Tableau 11 : Résultats de l'activité anti inflammatoire.....Annexe XIV

INTRODUCTION GENERALEP. 01

Partie Bibliographique

CH1 : PRESENTATION DE L'ABEILLE

Introduction :P.03

1. Une colonie de femellesP. 03

2. La ruche, Une maison géométrique.....P. 03

3. Le génie de l'orientationP. 04

3.1.La danse de l'abeilleP. 04

3.2.Un univers sonoreP. 05

3.3.Un insecte d'odeursP. 06

3.4.Un monde de visionP. 06

4. L'harmonie d'une colonieP. 07

5. Relation Abeilles-fleursP. 07

5.1.La PollinisationP. 08

6. Les aliments récoltés par l'abeille.....P. 09

6.1.Le nectar des fleursP. 10

6.2.Le pollenP. 11

6.3.Le miellatP. 11

6.4.L'eauP. 12

6.5.La propolisP. 12

CH 2 : PRESENTATION DE LA PROPOLIS

Introduction.....P.13

1. DéfinitionP.13

2. HistoriqueP.14

3. Origine botaniqueP. 15

3.1. origine externeP. 15

3.1.1. Propolis des zones tempéréesP. 16

3.1.2. Propolis des zones tropicalesP. 16

3.2. origine interneP. 17

4.	Récolte	P.17
	4.1. Récolte par les abeilles	P.17
	4.2. Récolte par l'homme	P.18
5.	Utilisation	P.19
	5.1 Utilisation par l'abeille	P.19
	5.2 Utilisation par l'Homme.....	P.19
	5.2.1. Cosmétique	P.20
	5.2.2. Médecine	P.20
	5.2.3. La technologie alimentaire	P.21
6.	Propriétés thérapeutiques de la propolis	P.21
	6.1.Action antioxydante	P.21
	6.2.Action anti-inflammatoire	P.22
	6.3.Activité antimicrobienne :	P.22
	6.3.1. Action antibactérienne	P.22
	6.3.2. Action antifongique et antimycosique	P.23
	6.3.3. Action antivirale	P.23
	6.4.Autre propriétés	P.23
7.	Caractères physico chimiques de la propolis.....	P.24
	7.1.Propriétés physiques de la propolis	P.24
	7.1.1. Les caractéristiques organoleptiques	P.24
	- Couleur	P.24
	- Saveur	P.24
	- Odeur	P.24
	7.1.2. Consistance	P.24
	7.1.3. Solubilité	P.25
	7.2.La Composition chimique de la propolis	P.25
	7.2.1. Composition de la propolis Algérienne	P.26
	7.2.2. Les propolis particulières	P.26
	- La propolis de Cuba	P.26
	- La propolis du Brésil	P.27

Partie Expérimentale

CH 3 : MATERIELS ET METHODES

1.	Matériel.....	p28
	1.1. Matériel biologique.....	p28
	1.1.1 La propolis.....	p28
	1.1.2. Matériel microbiologique.....	p28
	1.1.3. Les souris.....	p28
2.	Méthodes.....	p29
	2.1. Récolte.....	p29
	2.2. Purification.....	p29
	2.3. Screening chimique de l'extrait ethanologique de la propolis.....	p 29
	2.3.1. Solution à analyser : préparation de l'infuser 5%.....	p 29
	2.3.2. Recherche des substances polyphénoliques.....	p 29
	a) Les anthocyanes	p29
	b) Les Tanins	p30
	c) Les flavonoïdes	p30
	d) Les Alcaloïdes.....	p30
	e) Les sucres	p30
	f) Les saponisites	p30
	2.4. Extraction à froid (La Macération.....	p30
	2.5. Dosage des polyphenoles.....	p31
	2.5.1. Dosage des polyphenoles totaux de l'extrait ethanologique de la propolis.....	p31
	2.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux de l'extrait ethanologique de la propolis.....	p32
3.	Evaluation des activités biologiques	p33
	3.1. Evaluation de l'activité anti-oxydante	p39
	3.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	p34
	3.2.1. Conservation des souches.....	p35
	3.2.2. Stérilisation du matériel.....	p35
	3.2.3. Préparation des dilutions d'extrait Ethanologique de la propolis.....	p35
	3.2.4. Préparation du milieu de culture.....	p35
	3.2.5. Préparation de l'inoculum.....	p35
	3.2.6. Ensemencement et dépôt des disques	p36
	3.2.7. Lecture.....	p36

3.3 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....p36
 3.3.1 Expression des résultatsp37

CH 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Screening de l'extrait ethanologique de la propolis.....p38
2. Extraction à froid (La Macération).....p38
1. Quantification de quelques composés chimiques de l'extrait ethanologique de la propolis.....p38
 2.1.1. Dosage des polyphénols totaux.....p38
 2.1.2. Dosage des flavonoïdes.....p38
3. Résultats des tests biologiques.....p40
a.Evaluation de l'activité antioxydant par la méthode de réduction du radical libre DPPH.....p40
b.Evaluation de l'activité antimicrobienne.....p41
c.Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....p42

CONCLUSION

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUE

ANNEXES

Les secrets de la ruche ont lentement été préservés du regard des Hommes par le dard des gardiennes. Pourtant, les passionnés de l'abeille vous le diront, ouvrir une ruche vous emporte pour un voyage de tous les sens, le toucher des cadres et des abeilles, les senteurs du miel et de la cire, la recherche de la reine, l'observation d'un couvain, le chant de la ruche et la dégustation du miel... une exploration qui place aussi l'observateur dans une position de respect. La conscience de ses actes, des mouvements fluides, du sang froid sont nécessaires pour faire de cette expérience une source de joie. Et une célébration de vie (**Tournert 2007**).

1. Une colonie de femelles

L'abeille est avant tout un insecte social. Une colonie d'abeille fonctionne comme une véritable société dont la vie s'organise selon deux principes : la distribution de travail entre ses différents membres et la coordination de toutes les facultés individuelles. Chacun est tributaire de l'autre. Toutefois, l'abeille s'avère capable d'agir et de travailler en solitaire. Seul elle se gorge de nectar, se charge de pollen, retrouve sa route...mais isolée, elle meurt en quelques heures. Travailleuse, infatigable ne dormant jamais, l'abeille se conforme aux besoins de la colonie. La vie du groupe se fédère autour de la reine, une colonie sans reine est condamnée à disparaître, et une reine sans colonie ne peut créer la vie.

Les abeilles se répartissent en trois castes : la reine, qui pond jusqu'à deux à trois mille œufs par jour ; quelques centaines de mâles qui vivent travaillent pendant les mois ou ils sont indispensables aux fécondations des reines ; les milliers d'ouvrières, accomplissant les tâches nécessaires à la surveillance et au développement de la colonie. Elles entretiennent la chaleur de la ruche, assurent sa défense, élaborent et procurent la nourriture dont elles surveillent la répartition (**Tournert 2007**).



Figure 1 : des abeilles dans la ruche entrain de sucer du miel provient du site

mbutamasee.afrikblog.com

2. La ruche, Une maison géométrique

Ce rayon de ruche moderne pèse quelques centaines de grammes et peut contenir 4kilots de miel. Les abeilles aménagent leur intérieur avec la cire qu'elles produisent et créent les cavités où mûrit le miel, les nids où dort les larves. La constitution chimique de la cire ressemble à celle de la graisse. Ces petites écailles minces naissent dans la profondeur des plis qui forment les anneaux de l'abdomen (glandes cirières), les abeilles les recueillent avec leurs pattes et les malaxent à l'aide de leurs mandibules jusqu'à en faire une boulette qu'elles utilisent pour bâtir patiemment. la cellule de forme hexagonal la forme la plus économique qui se puisse concevoir, les rayons verticaux, parallèles, aux deux faces constituées d'alvéoles, représentent un chef-d'œuvre d'économie de travail et de matériaux. Mais le génie de cette architecture dépasse la simple réalisation d'un plan géométrique car chaque cellule possède une dimension particulière, qui préserve l'harmonie et la solidité de l'ensemble. Autre sophistication : les cellules sont inclinées à treize degrés vers le haut pour éviter l'écoulement de leur précieux contenu (**Tournert 2007**).

3. Le génie de l'orientation

Chez les insectes sociaux, la communication permet d'harmoniser les comportements. Le génie de l'orientation de l'abeille repose sur la synthèse de ses perceptions visuelles, olfactives, magnétiques, temporelles auxquelles s'ajoute la mémoire de son territoire (**Tournert 2007**). La diversité et la complexité des tâches réalisées par l'abeille supposent un équipement sensoriel très riche, qui puisse lui permettre d'apprécier son environnement. Comme les animaux supérieurs, l'abeille utilise les cinq sens : le toucher, l'odorat, la gustation, la vision et l'ouïe. En effet, l'abeille possède un système sensoriel tactile performant, constitué de poils mécanorécepteurs situés sur l'ensemble du corps. (**Rossant 2011**)

3.1. La danse de l'abeille

Décrite pour la première fois en 1927 par Karl Von Frish, génial observateur, la danse des abeilles est un système de communication qui informe les ouvrières sur la direction, la distance et la nature de la source de nectar ou de pollen. Elle sert aussi à indiquer la position d'un nouvel abri lors de l'essaimage. A leur retour, les éclaireuses se mettent à marcher rapidement sur un des rayons de la ruche en effectuant une sorte de huit et en frétilant de l'abdomen. Ce mouvement est suivi de près par un public qui se tient autour de la danseuse.

Peu à peu, certaines abeilles se mettent à l'imiter, en maintenant leurs antennes en contact avec son abdomen. Ce comportement de palpation permet à ces dernières d'intégrer l'odeur de la plante dont la butineuse s'est imprégnée. La butineuse peut aussi transmettre le nectar récolté aux abeilles suiveuses par trophallaxie pour les renseigner sur le type de nectar. Après quoi, elle sort et retourne à son butin pour danser à nouveau dès son retour. Ces mouvements, effectués dans l'obscurité de la ruche, ne sont suivis que grâce au contact antennaire. Les danses en rond, une fois dans un sens, une fois dans l'autre, indiquent que la source exploitée est à moins de cent mètres de la ruche. La vigueur de cette danse est en rapport avec la concentration en sucre du nectar découvert.



Figure 2 : la danse des abeilles, moyen de communication provient du site www.iletaitunehistoire.com

Les informations ainsi dispensées concernent la distance, l'odeur florale, la concentration du nectar ou la quantité de pollen, mais pas la position par rapport au soleil, qui est renseignée par la danse frétillante ou en « huit ». En effet, celle-ci renseigne sur la distance (supérieure à cent mètres), la direction, et la qualité des ressources disponibles. Plus la source est éloignée, plus la danse est lente. Le huit indique la direction du butin. La « recruteuse » transpose, sur le cadre et dans l'obscurité, l'angle entre la source et la position du soleil. Pour compléter l'information, elle distribue un échantillon de sa récolte et émet un son. Les organes tactiles et olfactifs des recrues sont alors en pleine action (**Le Conte 2002 ; Marchenay et Bérard 2007**).

3.2. Un univers sonore :

L'intérieur de la ruche résonne en permanence du bruissement de la multitude au travail. Ce chœur ronronnant accompagne toutes les activités. Deux types d'oreille permettent aux abeilles de capter les sons. La première, les antennes. Décode les sons aériens, la seconde,

située dans les pattes antérieures, captes les vibrations propagée par la cire. La reine aussi à son ronronnement et les jeunes reines non encore écloses chantent dans les alvéoles. Si nous ne comprenons pas tous ce que se disent, les abeilles, la richesse de leur univers sonore s'avère incontestable (**Tournert 2007**).

3.3. Un insecte d'odeurs :

Une surprise attend le néophyte qui ouvre une ruche pour la première fois : son odeur douce et agréable. La ruche sent bon, et il n'est surprenant que ce langage qui nous est étranger soit pour l'insecte un moyen ordinaire de communication. Outre les nombreux parfums émis par les fleurs est attractifs pour l'abeille, d'autres odeurs, plus complexes, assurent la cohésion sociale de la colonie. Notre insecte, qui passe la première partie de sa vie dans l'obscurité, utilise son odorat ainsi que ses impressions tactiles pour se guider. Ses antennes sont ses organes centraux de la perception des odeurs mais aussi de toucher. Par ses antennes, l'abeille perçoit plus de sept types d'informations différents (**Tournert 2007**).

3.4. Un monde de vision :

Le système visuel de l'abeille est adapté au mode de déplacement et d'alimentation de l'abeille adulte. Le pouvoir de résolution visuelle de l'abeille est plus faible que celui de l'homme. En revanche, il est plus rapide, car elle peut enregistrer au moins dix fois plus de stimuli lumineux par unité de temps. L'abeille perçoit les couleurs dans un spectre situé entre 300 et 500 nanomètres. Cela signifie qu'elle détecte le vert, le bleu et l'ultraviolet, ainsi que la lumière polarisée. En revanche, elle ne peut détecter la couleur rouge ; on peut donc expliquer la forte attraction des abeilles pour les fleurs de couleur rouge par le fait qu'elles les perçoivent dans l'ultraviolet entre 300 et 390 nanomètres, ce qui est alors attractifs pour elles (**Rossant 2011**).



Figure 3 : une image pris de la tête d'une abeille de près a l'intérieur de la ruche

4. L'harmonie d'une colonie

Les abeilles possèdent une organisation fascinante. En effet, trois castes structurent la société des abeilles : la reine, les ouvrières et les faux bourdons. Fort différents sur le plan morphologique comme dans leur espérance de vie, les membres de chaque caste assurent une tâche particulière. Chez les abeilles, chacun travaille dans l'intérêt du groupe, et de la vitalité de ce dernier dépend la survie de chacun. Au sein de la ruche, aucun individu ne peut vivre seul (Clément H., 2009). En fonction de la taille et du stade de développement de la colonie, l'effectif de la population peut varier de 20 000 à 80 000 individus, dont : une reine, 1000 à 4000 mâles (présents uniquement d'avril à septembre), le reste étant constitué par les ouvrières (Le Conte Y., 2002).

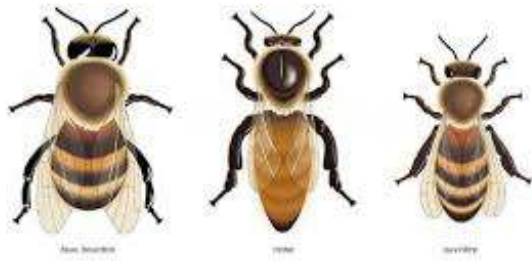


Figure 4 : les trois castes structurent la société des abeilles provient du site lerucher.e-monsite.com

5. Relation abeilles-fleurs

Si aujourd'hui, nous jouissons d'une biodiversité exceptionnelle, nous devons en être redevables aux insectes et plus particulièrement aux abeilles. En effet, la plupart des plantes à fleurs, pour assurer leur reproduction sexuée, doivent être préalablement pollinisées. Ce mode de reproduction des plantes nécessite l'intervention d'un agent intermédiaire : il peut s'agir du vent (anémogamie ou anémophilie), de l'eau (hydrogamie), des insectes (entomophilie ou entomogamie) ou des oiseaux (ornithophilie) ; quand il s'agit d'un animal, on parle alors généralement de zoogamie. Les abeilles jouent un rôle fondamental dans ce processus puisque 80% des plantes à fleurs et 75% des cultures dépendent d'elles pour leurs pollinisations. En une journée, une colonie de 40 000 abeilles (dont 30 000 butineuses) visite environ 21 millions de fleurs soit 700 par abeille¹ (Raynal-Roques 1994). Les végétaux qui procurent du nectar aux abeilles sont très nombreux : les arbustes les plus mellifères : acacia, aulne, bouleau, cerisier, châtaignier, cognassier, framboisier, frêne, groseillier, marronnier d'inde,

néflier, orme, orne, poirier, pommier, prunier, sorbier, tilleul, pin; parmi les végétaux herbacés : choux, cucurbitacées, genêt, houblon, jacinthe, jasmin, lavande, lin, lupin, luzerne, mélisse, oignon, pavot, romarin, sauge. **(BIRI.M.)** Les organes floraux de ces plantes sont parfois extrêmement complexes et se distinguent par leurs couleurs et leurs odeurs notamment afin que l'abeille repère la fleur et trouve facilement le chemin vers le nectar et le pollen situés à l'intérieur. C'est dans beaucoup de cas, la seule et unique façon pour la plante de se faire féconder et d'assurer ainsi la perpétuation de l'espèce. De son côté, l'abeille retire presque exclusivement des fleurs les éléments nutritifs qui lui permettent de vivre **(Raynal-Roques 1994)**.

Il existe un lien très intime entre les fleurs et les abeilles. Par exemple, les fleurs, qui ont besoin d'être fécondées par les insectes, produisent du nectar qui attire les insectes à elles et c'est cela qui attire également les abeilles. De plus, les fleurs attirent aussi les insectes au moyen de leurs fragrances ou de leurs couleurs vives. Cette relation entre les abeilles et les fleurs est aussi extrêmement importante pour nous, êtres humains, parce que l'apiculture est très importante pour l'agriculture. Beaucoup d'arbres fruitiers et de cultures sont fécondés en grande partie par les abeilles. Pour cette raison, certains experts considèrent plus importante la contribution des abeilles à cet égard que leur production de miel.



Figure 5 : Une abeille qui entrain de polliniser une fleur provient du site www.consoglobe.com

5.1. La Pollinisation :

En quelque cinquante millions d'années, l'abeille a développé une relation de symbiose totale avec les fleurs, cette interdépendance ancestrale, mutuellement bénéfique.

L'abeille est un agent pollinisateur remarquablement efficace, car elle contribue à la reproduction sexuée de plus de 80% des espèces de plantes à fleurs. La reproduction des espèces végétales dites mellitophiles (c'est-à-dire attractives pour les abeilles) dépend donc principalement du butinage des abeilles. L'abeille se nourrit exclusivement de nectar et de

pollen, et ces ressources sont butinés sur une aire considérable et sur un grand nombre d'espèces. La pollinisation est une conséquence fortuite des visites de l'abeille. Il en résulte une multitude d'adaptations chez les abeilles comme chez les fleurs. La morphologie florale des espèces mellitophiles est généralement telle que, lors de sa visite, l'abeille entre en contact avec les étamines et/ou le stigmate pour accéder au butin recherché. Il s'en suit une charge de pollen sur le corps de l'abeille, ou un dépôt de pollen sur le stigmate, ou les deux. Les fleurs attirent leurs visiteurs par leurs couleurs vives, leurs morphologies, leurs parfums **(Vaissière 2002)**. Lors de la récolte du pollen ou du nectar, l'abeille ne visite en habituellement que les fleurs d'une seule espèce. A chaque visite, quelques grains de pollen de la fleur précédente sont déposés involontairement sur le stigmate de la suivante. Au cours d'une journée, une butineuse visite environ 1.500 fleurs (dans le cas du trèfle). Ce seront autant de fleurs pollinisées. Sachant qu'une ruche contient de 40.000 à 60.000 abeilles, les perspectives de pollinisation sont colossales. Le phénomène est encore démultiplié si l'on se base sur un rucher entier **(Marchenay et Bérard 2007)**. La pollinisation intéresse également notre agriculture ; en effet, elle augmente non seulement la quantité mais aussi la qualité des fruits, légumes ou graines issus des plantes visitées. L'abeille domestique élevée en apiculture présente un avantage considérable sur les autres insectes, car des ruches peuvent être facilement installées sur les cultures à polliniser. En effet, des ruchers entiers sont apportés au moment de la floraison, sur les vergers, mais aussi sur les cultures de plantes légumières, oléagineuses, protéagineuses, fourragères, etc. Une bonne pollinisation favorise un meilleur rendement des exploitations agricoles et améliore la qualité gustative, la conservation, et l'aspect des fruits et des légumes. En ce qui concerne les plantes sauvages, leur pollinisation est un phénomène discret mais c'est un processus très important notamment pour le maintien des espèces et la diversité génétique du monde végétal. Des croisements peuvent avoir lieu entre des plantes botaniquement voisines, ce qui participe à la création de nouvelles espèces végétales **(Marchenay et Bérard 2007)**. La pollinisation constitue donc la contribution essentielle des abeilles tant aux écosystèmes naturels qu'à l'agriculture. Elle permet d'assurer à titre exclusif ou principal la fécondation de toutes les espèces mellitophiles **(Vaissière2002)**.

6. Les aliments récoltés par l'abeille :

Nectar, pollen, miellat, et eau sont les matières de base nécessaires à l'alimentation de la colonie. Nous allons étudier chacun de ces éléments.

6.1. Le nectar des fleurs :

Le nectar est une exsudation sucrée plus ou moins visqueuse, en fonction de sa teneur en eau. Il contient environ 90% de sucres, les plus courants étant le saccharose, le glucose et le fructose. Les proportions de ces sucres sont relativement stables pour une même espèce végétale. Le nectar contient également des acides organiques (acides fumarique, succinique, malique, oxalique, etc.), des protéines, notamment des enzymes, des acides aminés libres (acides glutamique et aspartique, méthionine, sérine, tyrosine, etc.), et des composés inorganiques (comme les phosphates). On peut également retrouver dans certains nectars des composés huileux, des alcaloïdes ou des substances bactéricides. Chaque espèce végétale fournira un nectar aux caractéristiques bien spécifiques qui contribueront à donner au miel sa saveur et son parfum. Ce nectar est produit par des glandes nectarifères à partir de la sève de la plante. La localisation de ces glandes nectarifères ou nectaires est très variable d'une plante à une autre. La quantité de nectar sécrétée dépend de très nombreux facteurs notamment : la dimension de la plante, la position de la fleur dans l'inflorescence et la durée de floraison (plus elle durera longtemps, plus la quantité de nectar sécrétée sera grande). L'âge, les facteurs génétiques, le sexe et l'état physiologique de la plante interviennent également car une fois fécondée la fleur ne produit plus de nectar. A cela s'ajoute des facteurs externes, comme l'humidité relative de l'air ; en effet, plus elle est élevée, plus le nectar est abondant, plus il est dilué et moins il sera attractif pour les abeilles. De même, un nectar trop concentré peu devenir trop visqueux pour être prélevé. La nature du sol, le vent, la lumière, l'altitude, et la température sont des facteurs qui interviennent également. La quantité de nectar varie aussi avec le rythme nyctéméral, c'est-à-dire l'alternance jour/nuit, les maximums et les minimums de sécrétion se situant selon les plantes à différents moments de la journée (**Assie 2004 ; Pham-Délégue 1999**). Dans de bonnes conditions, lorsqu'une espèce végétale produit un nectar en quantité, une colonie peut en récolter jusqu'à 5kg par jour (**Le Conte 2002**).



Figure 6 : Des abeilles fabriquent le nectar de miel provient du site fr.123rf.com

6.2. Le pollen :

L'appareil sexuel mâle comprend une ou plusieurs étamines, chacune étant constituée de deux parties, le filet et l'anthère qui contient les grains de pollen. Les grains de pollen représentent les gamètes mâles chez les plantes supérieures. L'ornementation de la paroi pollinique du grain de pollen est caractéristique du mode de pollinisation de la plante : lorsque la pollinisation est entomophile, les grains sont le plus souvent hérissés d'épines et le manteau pollinique est très collant ce qui favorise leur fixation les uns sur les autres et sur le corps de l'abeille (**Pham-Délégue M., 1999**). En moyenne, on trouve dans un grain de pollen : 20% de protides dont 50% sont des acides aminés indispensables, 5% de lipides, 36% de glucides, 11% d'eau, et 3% de sels minéraux (K, Mg, Ca, Fe, Cb...). On trouve également de nombreux pigments (caroténoïdes, rutine) et des vitamines des groupes B, C, D, E, et A. Le pollen constitue la principale source de protéines pour l'abeille. Suivant l'origine des fleurs butinées, la couleur des pelotes de pollen peut être très variée. Souvent jaunes, elles peuvent aussi être blanches, oranges, grises, brunes, noires et même bleues ou vertes. Lorsque l'abeille visite des fleurs, elle gratte vigoureusement leurs anthères avec ses pattes de devant et son corps velu se charge de pollen. De plus, au niveau de leurs pattes postérieures, les abeilles sont dotées de brosses spécialement adaptées à la récolte du pollen. Ce qui permet, après façonnement par addition de sécrétions salivaires, de nectar et de miel, de constituer des petites masses ovoïdes de quelques millimètres de diamètre appelées des pelotes. Le pollen ramassé représente 10 à 30 mg par voyage, travail qui peut être réalisé en dix minutes. Une ruche récolte ainsi 30 à 40 kg de pollen pendant le printemps et l'été (**Dr Dubois, 1987 ; Le Conte Y., 2002**).



Figure 7 : La récolte du pollen par une ouvrière (Marchenay P. et Bérard L., 2007).

6.3. Le miellat :

Il s'agit d'un liquide épais et visqueux constitué par les excréments liquides des Homoptères (psylles, cochenilles et surtout pucerons). Ces insectes piqueurs rejettent par leurs anus, des gouttelettes sucrées et riches en acides aminés, le miellat. Il est plus dense en sucre

que le nectar, plus riche en azote, en acides organiques, en minéraux et sucres complexes (Clément 2002). Les plantes hôtes de ces insectes sont essentiellement les arbres forestiers ou d'ornementation comme le sapin, l'épicéa, le pin sylvestre, le tilleul et le chêne. Le miellat est récolté par les abeilles en complément ou en remplacement du nectar afin de produire un miel plutôt sombre, moins humide que le miel de nectar. Toutefois, la récolte du miellat par les abeilles est très aléatoire et dépend de nombreux facteurs climatiques notamment. Tous les miellats ne conviennent pas aux abeilles (Clément 2002 ; Pham-Délègue 1999).



Figure 8 : miellat provient du site www.lesessentiellesdecristine.com

6.4. L'eau :

Les abeilles transportent l'eau jusqu'à la ruche grâce à leur jabot. Elle est indispensable car les larves en pleine croissance en consomment beaucoup.

6.5. La propolis :

Les abeilles récoltent la propolis sur les bourgeons de certains arbres. Ce n'est pas un aliment mais c'est un produit de colmatage des trous et aseptisé l'atmosphère, pour enrober et « momifier » les cadavres d'ennemis (souris, serpents, escargots, etc.) tués et qu'elles ne peuvent être en dehors de la ruche (Marchenay et Bérard 2007).



Figure 9 : Propolis dépôt sur cadres d'après Tournert 2007.

La Propolis est beaucoup moins anciennement connue que le miel, des études confirment que son utilisation remonte à l’Egypte antique et de façon certaine au Grecs (**Jean, 1999 ; Raoul 1992**).

Etymologiquement, « *pro* » (devant) et « *polis* » (cité) veut dire « devant la cité » ou « Protège la cité ». Son nom résume bien à lui seul les propriétés et les rôles de cette substance d’origine à la fois végétale et animale. Bien que la composition soit relativement différente selon l’origine géobotanique, l’activité des diverses propolis reste commune (**Apimondia 2001**). De cette étymologie se dégage la notion de rempart destiné à assurer la protection d’un lieu donné. De la défense de la cité à la défense de notre organisme, il n’y a qu’un pas allègrement franchi par la propolis qui, depuis de nombreux siècles, nous sert de « bouclier naturel » contre les agressions de multiples agents pathogènes. (**Sforcin 2011**).

1. Définition

La Propolis désigne toute une série de substances résineuses, gommeuses et balsamiques, de consistance visqueuse, recueillies sur certaines parties (bourgeons et écorces essentiellement) de végétaux (certains arbres principalement) par les abeilles, qui les rapportent à la ruche et qui les additionnent et les modifient vraisemblablement en partie par l’apport de certaines de leurs sécrétions propres (cire et sécrétions salivaires essentiellement). (**Alexandare 1984 ; Alin 1996**)

La propolis est une substance résineuse hétérogène à consistance solide, parfois cireuse et granuleuse et qui devient friable et cassante à des températures inférieures à 15°C. A hautes températures, elle devient gluante et molle. Sa couleur varie du jaune au noir en passant par l’orangé, le mauve et le brun. Ces couleurs sont dues aux pigments qu’elle contient (chryisine, anthocyanes). Le goût de la propolis est très particulier, avec une sensation brûlante et pimentée (**Apimondia 2001**). La production de propolis varie d’une race à l’autre et d’une colonie à l’autre. La saison, la région géographique, le climat sont également des facteurs qui régissent la récolte et la production de propolis (**Donadieu 2008**). En moyenne, une colonie peut produire de 50 à 300 g de propolis par an. Les races caucasiennes en utilisent beaucoup plus que les races d’Europe de l’Ouest (**Marchenay et Bérard 2007 ; Jean-Prost 2005**).



Figure 10 : Propolis, dépôt sur cadres provient du site www.mielsdanicet.com

2. Historique

L'utilisation de la propolis en médecine populaire remonte à des temps immémoriaux. **Les Egyptiens** l'utilisaient il y a 6000 ans en médecine, mais aussi pour momifier les cadavres. **Les Grecs** s'en servaient pour activer la cicatrisation de leurs plaies et pour fabriquer un parfum merveilleux appelé polyante. Aristote la considérait d'ailleurs comme un remède "aux affections de la peau, plaies et suppurations". **A Rome** elle se vendait plus cher que le miel. Chaque légionnaire romain en possédait, paraît-il une petite quantité sur lui au moment des campagnes militaires. Pline disait d'elle "qu'elle retirait les aiguillons, elle réduisait les enflures et ramollissait les durcissements de la peau. Elle diminuait les douleurs nerveuses, guérissait les ulcères, les abcès, les furoncles souvent incurables". Les **Incas** l'utilisaient contre "les infections qui faisaient monter la fièvre". **Les Géorgiens** (ex URSS) (union soviétique) les apiculteurs ont utilisé la *Propolis* comme un médicament pour les animaux depuis le début de 19^e siècle, l'utilisaient contre les inflammations de la cavité buccale et les caries dentaires. Dans la médecine populaire russe on confectionnait des onguents à base de propolis pour traiter certaines maladies. **En France**, au XVII^e siècle, elle est mentionnée drogue utilisée pour les plaies. **En Allemagne**, on confectionnait des remèdes : la pommade pour plaies ou propolis des abeilles, guérissait sûrement les cancers, ulcères, eczéma, éruptions. Prix 2 marks (une publicité dans un journal de 1900). Au début de notre siècle, sa popularité augmente énormément, puisque pendant la guerre des Boers, elle est presque exclusivement employée pour guérir les plaies des blessés. A cette époque, on ignorait bien évidemment les antibiotiques et l'emploi de la propolis placé directement sur les plaies, à

évitée les infections de blessés. Pendant la deuxième guerre mondiale, elle a été utilisée avec succès dans les cliniques soviétiques. Au cours de l'histoire la Propolis a également fait preuve de son efficacité dans la médecine vétérinaire

Les usages courants en médecine humaine se sont transmis jusqu'à nos jours. Durant ces trente dernières années, des recherches analytiques, pharmacologiques et cliniques ont été effectuées. Des chercheurs du monde entier se penchent sur la propolis. Ses propriétés biologiques sont confirmées *in vitro* et *in vivo*, de nombreux essais cliniques sont réalisés. Les scientifiques vont plus loin : ils déterminent la composition chimique de la propolis et isolent les principes actifs responsables de ses activités thérapeutiques.

(www.ruchersdelorraine.com)

3. Origine botanique

3.1. origine externe :

Les principales essences d'arbres, connues pour être productrices de Propolis sont représentées par différents conifères : pin, sapin, épicéa ; plusieurs espèces de peupliers (qui semble la source la plus importante); l'aulne; le saule; le marronnier d'Inde; le bouleau; le prunier; le frêne ; le chêne et l'orme.

Plusieurs chercheurs se sont intéressés à l'origine botanique de la propolis, en se basant sur leurs observations et dans certains cas en se référant à des connaissances chimiques faibles qui comportent des comparaisons entre échantillons de propolis et matériel végétal.

(Valcic et al 1999) Ont étudié la propolis du Chili, pour déterminer son origine botanique par des analyses microscopiques du pollen et des fragments de feuilles trouvés dans la propolis.

Francisco Tomas-Barberan et al 1993 ont observé les abeilles dans leurs vols puis récolté les fleurs visitées. Ces fleurs ainsi que différentes propolis sont extraites par le méthanol, puis analysées par HPLC (High Performance Liquid Chromatography) pour déterminer le profil des composés phénoliques. Une fois déterminés, les profils sont comparés. Les chromatogrammes identiques ou similaires permettent de déterminer la source de la propolis.

Selon **(Crane 1988)** les plantes et les arbres sécrètent une substance résineuse et gommeuse

pour se protéger des insectes, des bactéries et des moisissures lorsqu'elles sont blessées.

Après plusieurs études, Crane a établi une liste de plantes suspectées d'être la source de la propolis. La collecte de la propolis est une activité rare des abeilles, difficile à observer. Elle se fait souvent au niveau des arbres **(Bankova et al 2000)**. C'est pour cette raison que nous ne

discuterons que les résultats des études de comparaisons chimiques entre la propolis et les plantes pour les deux zones : tempérée et tropicale.

3.1.1. Propolis des zones tempérées :

Plusieurs études ont démontré que dans les zones tempérées : en Europe, Afrique du Nord, Asie et en Amérique du Nord, la source principale de la propolis est le peuplier (*populus. sp*) avec toutes ses espèces (Tomas-Barberan et al 1993). Les espèces utilisées sont comme suit :

- * Europe : *Populus nigra* (Maciejewicz et al 2001).
- * Bulgarie : *Populus nigra*, *Populus nigra italia*, *P.trenula* (Bankova et al 1992 et 1994, Marcucci,1995).
- * Albanie : *Populus nigra* (Bankova 1994).
- * Mongolie : *P. suaveolens* (Bankova et al 1994, Marcucci 1995).
- * USA : *Populus fremontii* (Greenway et al 1990).

La propolis peut avoir aussi comme origines : prunier, frêne , chêne , orne (Lavie 1975), aulne (Francisco A Tomas-Barberan et al 1993, Lavie 1975, Makashvili 1978), bouleau, féverole et saule (Hegazi 1997), ainsi que des conifères : pin , sapin et épicéa (Hegazi 1997, Lavie 1975, Metzner et al 1997).

3.1.2. Propolis des zones tropicales :

Dans les zones tropicales où le peuplier est inexistant, les abeilles cherchent une autre source de propolis. Chaque région et chaque colonie à une plante préférée.

Au Brésil la propolis a comme source principale *Baccharis dracunculifolia* DC (Lopez et al. 2003). Elle peut provenir aussi d'autres espèces comme : *Aroucacia*, *vernomia*, *diclenia*, *hyptis* (Santos et al. 2003) et *eucalyptus* (Lopez et al. 2003).

Au Venezuela, les exsudats des deux espèces *Clusia major* et *Clusia minor* sont la source principale de la propolis (Valcic et al. 1999).

En Australie, les abeilles utilisent *Xanthorrhoea pressii* Endl et *X. australis*.

A Hawaï, les espèces utilisées sont : *Plumeria accuminata* AIT, *P. Rubra acutifolia*, *Schinus terebinthifolius* et *Psidium guajava* (Tomas-Barberan et al 1993).

La connaissance de la source végétale de la propolis est très importante pour sa standardisation chimique. La propolis est ainsi facilement caractérisée. (Segueni 2011.)

3.2.Origine interne :

D'après les chercheurs allemands; la Propolis serait un résidu résineux, provenant de la première phase de la digestion du pollen dans un petit organe, situé entre le jabot et l'intestin moyen (محمد عبد اللطيف 1994.)

Il faut toutefois noter que la Propolis diffère, tant de point de vue qualitatif que quantitatif des résines végétales, dont elle est issue ; la matière résineuse brute est additionnée de cire, de sécrétions salivaires de pollen et de divers impuretés, donnant naissance à une substance tout à fait originale.

La structure microscopique de la Propolis est maintenant assez bien connue grâce au microscope électronique à balayage. (Alin 1996.)

4. Récolte

La Propolis est devenue un produit à part entière dans la production d'une exploitation apicole. Considérée longtemps comme un déchet de la ruche, elle a ces dernières années acquis une réelle notoriété compte tenu de son influence favorable sur la santé humaine et de son impact sur le revenu de l'entreprise apicole. Récolter de la propolis est devenu rémunérateur, à condition de respecter certains principes.

4.1.Récolte par les abeilles :

La propolis est récoltée par des abeilles âgées. Cette récolte s'effectue schématiquement de la façon suivante : La butineuse fait d'abord usage de ses antennes pour situer la partie la plus intéressante de la source qu'elle attaque avec ses mandibules. Elle décolle les fragments de résine, les mélange avec ses mandibules et les incorpore à sa salive. Puis, tête redressée, elle se recule afin d'étirer la particule saisie jusqu'à ce qu'elle soit transformée en un fil et que celui-ci se rompe. Enfin, elle entasse et loge les gouttelettes formées dans ses corbeilles et les rapporte à la ruche. (Donadieu 2008 ; Apimondia 2001 ; Jean-Prost 2005)



Figure 11 : une photo pris qui présent du près les baskets d'une ouvrière provient du site fondation.lunedemiel.fr

4.2. Récolte par l'homme :

Ils restent assez rudimentaires : soit par grattage, soit par grille.

Pour ceux qui utilisent des grilles à Propolis (Fig.3) l'opération de récupération est délicate.

On ramasse les grilles qui étaient posées sur les hausses, et on les entrepose dans un congélateur pour rendre la propolis cassante et pouvoir mieux la retirer de son support.

L'idéal est de travailler aussi dans une pièce froide, car, dès que l'on sort les grilles à température ambiante, la propolis se ramollit aussitôt et se détache moins facilement.

Autre frustration dans cette technique : une partie de la propolis reste collée aux têtes de cadres. Il faut donc les racler aussi pour récupérer un maximum de produit...

Pour ceux qui résistent à acheter des grilles, la pose de feuilles en plastique alimentaire sur les têtes de cadres peut être une alternative plus économique. A la longue, les feuilles se déforment et les abeilles en colmatent les interstices. Avec l'avantage que la propolis reste collée sur les têtes de cadres. Elle se récolte alors plus facilement par simple grattage. Ces 2 provenances, grattage ou grille, récoltées avec des feuilles ou des grilles, produisent une propolis de très bonne qualité et d'une fraîcheur équivalente car récoltées dans l'année et chaque année. Certains ne jurent que par la propolis de grilles, lui trouvant toutes les vertus, alors que celle de grattage serait de moindre qualité. Il faut récolter la propolis chaque année et éviter son vieillissement.

Autrement, pour ceux qui récoltent la propolis seulement par grattage des cadres, une raclette inox dans un endroit propre, bien se laver les mains, ne pas tousser sur la récolte, avec le port d'un masque très recommandé, la propolis sera récupérée dans une bûche en plastique alimentaire, puis conditionnée rapidement dans des sacs plastiques de 4/5 kg présentés à plat et non en boule. Le stockage doit être fait dans une pièce fraîche, sombre et sèche, ou dans une chambre froide, ceci pour éviter le développement de la teigne et conserver tous les principes actifs de la Propolis.

L'hiver est la saison idéale pour réaliser ce travail d'intersaison car la Propolis se décolle plus facilement de ses supports (grilles, hausses, cadres...).



Figure 12 : une grille à propolis posé sur les hausses provient du site

5. Utilisation

5.1. Utilisation par l'abeille

Les abeilles s'en servent pour réduire l'entrée de leur colonie et comme « paillason sanitaire » au retour des butineuses. L'ensemble de la surface interne de la ruche, alvéoles comprises, en est recouverte d'une fine couche (additionnée de salive) dont les propriétés antibactériennes et antifongiques permettent de contrôler la contamination des larves et denrées (malgré des conditions extrêmement favorables au développement des bactéries et autres mycoses). Mélangées à de la cire et d'autres matériaux de construction, ces résines sont également utilisées pour fixer des éléments mobiles, boucher des petits trous, peaufiner l'isolation thermique et l'étanchéité ou embaumer le cadavre d'un intrus, empêchant ainsi une putréfaction fatale à la colonie.

5.2. Utilisation par l'Homme

La « redécouverte » moderne de la propolis est à l'origine de nombreuses études qui permettront d'utiliser au mieux ces différentes facettes de manière bien cadrée. Précisons que l'utilisation des différentes formulations chez l'homme ne provoque pas d'effets secondaires néfastes (hormis quelques rares cas d'allergie, moins de 0,5 pour mille), est bien tolérée et est compatible avec les autres thérapeutiques.

La propolis est largement utilisé dans plusieurs domaines tels que :

5.2.1. Cosmétique :

La propolis et ses extraits ont été largement utilisés dans la dermatologie et la cosmétologie 39. Ses effets sur la régénération et la rénovation des tissus ont été bien étudiés. Avec ses caractéristiques bactéricides et fongicides, elle offre de nombreux bénéfices dans divers applications. **(Krell 1996).**

5.2.2. Médecine :

La formulation complexe (et variable), comprenant une synergie remarquable de 60 flavonoïdes, explique les propriétés antibiotiques, antivirales, antifongiques, antigerminatives, anesthésiques, cicatrisantes, antioxydantes, anti-rhumatismales ainsi qu'une action sur le métabolisme du neurone, une intervention dans les mécanismes immunologiques et des propriétés anti-inflammatoires et anti-tumorales non négligeables.

La propolis est utilisée pour augmenter la résistance naturelle, ou comme traitement ou adjuvant des affections suivantes avec les conseils de votre médecin traitant bien sûr :

Sphère cardio-vasculaire : influence favorable sur le cœur, les parois des vaisseaux et les troubles dus à l'artériosclérose ;

Sphère respiratoire : affections ORL (angines, pharyngites, rhinites, otites), broncho-pulmonaires (asthme, rhume des foins, bronchites chroniques, grippe) ;

Sphère digestive : stomatologie (hygiène dentaire, gingivites, aphtes, douleurs et infections dentaires), gastrites, certains ulcères, colites ;

Sphère génito-urinaire : inflammations, affections de la prostate ;

Sphère dermatologique : contusions, coupures, brûlures, infections, callosités, verrues, cicatrices chéloïdes, eczémas, psoriasis, mycoses, zona, lésions anales ;

Sphères diverses : métabolique (dont chélation de métaux lourds), affections thyroïdiennes, certains rhumatismes, orgelets, régénération de l'organisme après stress

Douleur : anesthésies locales, arthrites et arthrose ;

Effets sur le cancer : renforcement de l'effet de la chimiothérapie et baisse de ses effets secondaires, amélioration de la formule sanguine, action anti-tumorale sur certains types de cancer

5.2.3. La technologie alimentaire :

Les activités anti-oxydantes, antifongiques et antibactériennes de la propolis lui offre une place de choix dans son domaine. Les résidus des propolis semblent avoir un effet généralement bénéfique sur la santé humaine. Cependant, seulement très peu d'études ont été faites sur les effets secondaires possibles sur la plus grande consommation des propolis. D'après la littérature, certains composants identifiés dans les propolis peuvent être très préjudiciables à la santé humaine. **(Krell 1996.)**

La propolis peut être utilisée comme préservatifs en matériel d'emballage de nourriture. **(Mizuno ; linuma et Kato , 1987.)** Elle set aussi utilisé pour la prolongation de la vie d'entreposage en congélation de poissons. **(Yves 1981.)**

6. Propriétés thérapeutiques de la propolis

La propolis possède de nombreuses propriétés thérapeutiques. L'ensemble des recherches effectuées à ce jour permet de montrer plusieurs propriétés biologiques de ce produit. Ces propriétés sont en rapport avec la composition chimique. Nous ne parlerons dans notre travail que des propriétés les mieux connues et les plus souvent rencontrées.

6.1.Action antioxydante

La propolis possède un effet antioxydant **(Matsushige et al. 1995, Hayashi et al. 1999, Moreno et al. 2000)** dû à la présence de benzyl caffeate **(Yamauchi et al. 1992)**, flavonoïdes **(Krol et al. 1990)** qui ont un énorme pouvoir antioxydant. La quarantaine de flavonoïdes présents dans la propolis lui procurent une activité de « Free radicals scavengers » **(Nakajima et al. 2009)**. C'est, après le thé et le vin rouge, l'élément le plus riche en flavonoïdes. Son action antioxydante est aussi dose-dépendante. A dose faible, elle est antioxydante mais à dose forte, elle semblerait devenir pro-oxydante. Il faut donc établir une dose efficace pour optimiser son utilisation **(Apimondia 2001)**. Cette action est démontrée où les composés phénoliques, les flavonoïdes, et surtout l'artepilline C, s'opposent à la peroxydation des lipides et préviennent les dommages des radicaux libres **(Yang et al. 2011 ; Shimizu et al. 2004)**. De nombreux travaux ont montré l'effet protecteur de la propolis contre la toxicité des médicaments anticancéreux **(Lahouel et al. 2004)**. De plus, la propolis possède un effet hépato protecteur contre la toxicité du paracétamol **(Seo et al. 2003)**, du

CCl₄ (El-Khatib *et al.* 2002) et de l'alcool (Lin *et al.* 1999). Ces effets sont en rapport avec les propriétés antioxydantes de cette substance.

6.2. Action anti-inflammatoire

L'effet anti-inflammatoire de la propolis, proche de l'Aspirine, est dose-dépendant. Les extraits aqueux donnent de meilleurs résultats. Les flavonoïdes en sont responsables, en inhibant la synthèse de NO et de PG, inducteurs d'inflammation (Paulino *et al.* 2006) et en supprimant la production de cytokines inflammatoire par les monocytes/macrophages (Ansoorge *et al.* 2003). Des études ont montré que son action est intéressante dans les trachéites et pharyngites liées à une intubation prolongée pendant une intervention chirurgicale. Les composés terpéniques (bisabolol en particulier) agiraient également dans l'action anti-inflammatoire (Donadiou 2008).

6.3. Activité antimicrobienne :

De nombreuses études ont démontré l'effet d'inhibition de La propolis sur les souches Gram+, Gram- (Grange et Davey 1990, Rojas Hernandez *et al.* 1993) et les bactéries anaérobies (Kedzia 1986, Boyanova *et al.* 2006, Santos *et al.* 2002). Cet effet dépend de la souche étudiée, de l'origine de la propolis et du solvant utilisé (Ugur et Arslan, 2004). De plus, la propolis possède des propriétés antifongiques (Ota *et al.* 2001, Pepeljnak *et al.* 1982, Cizmaric et Trupl, 1976, Ozcan *et al.* 2004), antivirales (Amaros *et al.* 1992 et 1994, Maksimova-Todorova *et al.* 1985, Escamu *et al.* 1981), anti protozoaire et antiparasitaire (Higashi *et al.* 1995).

6.3.1. Action antibactérienne

Le spectre antibactérien de la propolis est large. Son action est puissante, elle agit en effet sur *Staphylococcus aureus* et SARM (Trusheva *et al.* 2010), les streptocoques, *Streptococcus mutans* responsable des caries dentaires et *Streptococcus sobrinus* (Kim *et al.* 2011), *Helicobacter pylori* responsable d'ulcères gastroduodénaux, les microcoques (Farseni *et al.* 2009), *Bacillus subtilis*, *Bacillus alvei*, *Bacillus larvae*, *Proteus vulgaris* et les salmonelles (Donadiou 2008), *Salmonella enterica* Typhi (Orsi *et al.* 2011), *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis* (Marcucci *et al.* 2001). Cette activité antibactérienne serait imputable à l'acide cinnamique, aux molécules aromatiques, aux acides diterpéniques, aux composés phénoliques et aux nombreux flavonoïdes qui composent la propolis et en font le plus actif des produits de la ruche

(Ramanauskienè et Inkèniènè, 2011 ; Boukraâ et Sulaiman, 2009 ; Bankova *et al.* 1996). Cependant, le mécanisme d'action est encore mal compris. Des chercheurs japonais pensent que l'inhibition de la croissance bactérienne serait due à la destruction de leur paroi empêchant ainsi leur division cellulaire (Domerego *et al.* 2009). Des tests cliniques *in-vitro* ont montré que la propolis stimulait l'activité des bactériophages des phagocytes et les rendait deux fois plus actif. Cette action ne rencontre pas de résistance naturelle de la part de ces souches courantes (*in Senne, 2010*).

6.3.2. Action antifongique et antimycosique

La propolis possède une action contre *Candida albicans*, *Trichophyton*, *Microsporium canis* et *Cryptococcus* (Donadiou 2008 ; Apimondia 2001). Ce sont la galangine, le kaempférol, la pinocembrine et l'acide caféique qui lui confèrent cette activité. Associée à des médicaments antimycosiques, la propolis a de meilleurs effets sur les mycoses de la peau ou des muqueuses. Son efficacité est démontrée lors d'atteintes de la muqueuse de la sphère ORL et du vagin. Elle est également associée au traitement de l'infection du tube digestif des nourrissons par *Monilia albicans* (Apimondia 2001).

6.3.3. Action antivirale

La propolis est aussi une substance aux propriétés : anti-HIV (Ito *et al.* 2001) Il y a peu d'études qui ont été réalisées sur l'activité antivirale de la propolis. (Marcucci, 1995).

6.4. Autre propriétés :

Beaucoup d'autres propriétés biologiques et pharmacologiques des propolis ont été décrites par divers auteurs, y compris la régénération des tissus, l'activité hepatoprotective, action immunomodulatrice, etc. (Marcucci, 1995)

La caractérisation physico-chimique de la propolis est très importante pour l'obtention d'un produit de qualité standardisé, tel que réclame le marché. La variété des sources de propolis a, bien évidemment, une influence sur sa composition. Plus de 150 constituants ont déjà été mis en évidence et identifiés, sans compter les substances insolubles dans les solvants organiques. Cette liste de noms et de formules est cependant encore très incomplète. (Debuyser 1984.)

La propolis est récoltée sur une grande variété d'arbres et arbustes. Chaque région et chaque colonie, semble avoir ses propres sources de résine préférées. Ce qui explique la grande variation de la couleur et d'odeur de la propolis ainsi que sa composition. (**Krell, 1996.**)

7. Caractères physico chimiques de la propolis

7.1. Les propriétés physiques de la propolis

7.1.1. Caractéristiques organoleptique

La propolis est une substance résineuse, d'aspect hétérogène qui présente les caractères suivants :

- Couleur

De couleur très variable selon sa provenance, allant du jaune clair (conifères) au brun très foncé, presque noir en passant par toute une gamme de brun extrêmement riche et étendue (rougeâtre, verdâtre, etc.) (**Lavie 1975, Krell 1996, Evangelist-Rodrigues et al 2001.**)

- Saveur

De saveur souvent âcre et parfois amère (**Makashvili 1978, Metzner et al 1997, Nikolaev 1978.**)

- Odeur

D'odeur variable selon son origine, en général arôme agréable et douceâtre, mélangé à celui du miel, de la cire et d'autres produits (cannelle, vanille...etc.) (**Evangelist-Rodrigues et al 2001, Metzner et al 1997.**) Si elle est brûlée, elle dégage une odeur d'encens très délicate et très recherchée en rapport avec les résines aromatiques (**Nikolaev 1978.**)

7.1.2. Consistance

La propolis se présente sous l'aspect d'une substance de consistance variable en fonction de la température. Dure et friable à 15°C, elle devient molle et malléable aux alentours de 25 à 45 °C et collante ou gluante en dessus, jusqu'à fondre vers 60 – 70°C en moyenne (vers 65 à 82 °C pour Makashvili). Mais le point de fusion peut aller jusqu'à 100°C et au-delà (**Lavie 1975, Krell 1996.**)

7.1.3. Solubilité

La propolis est peu ou pas soluble dans l'eau. Selon (**Bankova et al 1998**) quelques composants de la propolis sont solubles dans l'eau bouillante.

Elle est soluble partiellement dans l'alcool (éthanol, méthanol) (**Lavie 1975, Justin 1996**), l'acétone, l'ammoniaque, le benzène, le chloroforme, l'éther, le trichloréthylène, le glycol... etc. Seul un mélange adéquat de différents solvants permet de dissoudre la quasi-totalité de ses composants (**Lavie 1975**).

- Le pourcentage d'impureté est de 18 à 34 % (**Makashvili 1978**).
- Le pourcentage d'humidité est de 5,07 % (**Evandro et al 2001**).

7.2. La Composition chimique de la propolis:

La composition chimique de la propolis est extrêmement complexe. Elle est composée essentiellement de cire, résine et produits volatiles. La cire est sécrétée par les abeilles. Les deux autres composants proviennent des sécrétions des plantes butinées lors de la collecte de la propolis (**Marcucci 1995**). La composition chimique de la propolis a éveillé l'intérêt de nombreux chercheurs. Plusieurs travaux ont été effectués sur des propolis de différents pays et ont abouti les conclusions suivantes :

La composition chimique de la propolis varie selon l'origine botanique (**Bankova et al 2000, Negri et al 2000, Popova al 2002**), l'espèce d'abeille, le temps de la récolte et la zone géographique (**Ghisalberti 1979**), mais elle présente tout de même qualitativement de nombreuses substances qui s'y retrouvent de façon constante et relativement stable (**Justin 1996**).

D'une manière générale la propolis est **composée de 45 à 55% de résine** contenant principalement des flavonoïdes et des acides phénoliques ainsi que leurs esters (**Bankova et al 1982, 1992**), **25 à 35% de cire**, **5% de pollen** (**Metzner et al 1997**) et **5% d'autres composés** Organiques avec comme minéraux: calcium, magnésium, fer, zinc, silice, potassium, phosphore, manganèse, cobalt (**Metzner et al. 1997**) et vitamines: A, B1, B2, B3, C, E, H et la vitamine P (**Ghisalberti 1979, Ivanov 1980**).

La composition chimique étant différente selon la zone géographique, les propolis des zones tropicales et tempérées présentent donc des constituants différents. Le mélange spécifique des constituants de la propolis concourt à un effet synergique global, ce qui pourrait mieux expliquer ses propriétés biologiques.

Composition de la propolis purifiée, selon la littérature, on a pu identifier jusqu'à 150 constituants différents qui font de la propolis une véritable usine de produits chimiques **(Marcucci 1995 ; Jean-Proste 2005)**. L'inventaire complet de ses substances serait fastidieux. Citons toutefois, plus de quarante flavonoïdes (flavones, flavonoles et flavanones), des acides aromatiques, des esters aromatiques, terpanoïdes, acides aliphatiques, autres matières organiques et minérales et nombreuses vitamines (dont la vitamine A et la vitamine du group B. **(Tapizo, Enzo ; Ciappini, Maria , Cazzolli, Ampelio , Tapiz, Luis 2006.)**)

Les composés phénoliques (polyphénols) semblent les plus dominants dans la composition de la propolis, en plus ce sont les principaux composés responsables des activités biologiques de la propolis tel que l'activité antimicrobienne **(Scazzocchio, D'auria, Alessandrini, Pantanella, 2006.)** antivirale **(Genya ; Shuxian ; Spivak ; James ; Lokensgard ; Philip Peterson. 2005.)** et antioxydante **(Shiva ; Shariatpanahi ; Manoochehr ; Ahmadkhniha ; Samadi ; Ostad 2006)**.

7.2.1. Composition de la propolis Algérienne

D'après une étude réalisée dans quatre régions différentes du pays (Tlemcen, Guelma, M'sila et Tizi-Ouzou), la propolis Algérienne est constituée de Cinq familles principales : les acides aliphatiques, les acides aromatiques, les esters, les flavonoïdes et les terpènes **(Ferhoum 2008)**

7.2.2. Les propolis particulières

Du fait de la flore différente de celle d'Europe, les propolis de Cuba et du Brésil se distinguent par une composition chimique propre et des propriétés qui en découlent particulières.

- La propolis de Cuba

La propolis de Cuba est rouge, brune ou jaune **(Monzote Fidalgo et al. 2011)**. Très spécifique de la flore cubaine, elle contient en plus des acides benzoïques et de leurs dérivés une fraction volatile qui comprend du 1,4-naphtoquinone. Ce dérivé de la vitamine K aide à augmenter l'activité biologique de cette propolis. Les flavonoïdes sont présents en petite quantité mais plus nombreux que les acides phénoliques. L'acide propyl-3-[4-hydroxy-3-(3-oxo-but-tenyl)-phényl]-acrylique isolé a montré une activité antioxydante plus efficace que la vitamine C et la vitamine E. Cette propolis contient en plus 4 dérivés de l'acide

dicaféoylquinique qui possèdent une puissante activité de « free radical scavenging » et un potentiel hépatoprotecteur plus important (**El-Hadi et Hegazi 2001**).

- La propolis du Brésil

La propolis du Brésil est de couleur verte ou marron. Elle contient des dérivés de l'acide prényl-coumarique, des alcools triterpéniques et des diterpènes, provenant des plantes *Baccharis* sp. et *Araucaria* sp. (**El-Hadi et Hegazi 2001**). Sa teneur en baccharine, artépilline C et drupanine est plus élevée dans la propolis verte. (**Fonseca et al. 2010**) ont démontré une activité antioxydante très intéressante de la propolis verte. Ses constituants actifs (acide coumarique, acide caféoylquinique, drupanine, artépilline C et baccharine) ont montré un pouvoir de « free radicals scavenger » bien plus important qu'avec les propolis européennes (en administration orale). Les ions superoxydes et les radicaux libres hydroxyl, lipidiques, peroxyd lipidiqes et alkoxyd produits par oxydation de la peau par des ultraviolets chez des souris nues sont significativement capturés ($p < 0,001$) (**Gharbi 2011**).

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

1.1.1. La propolis

Les échantillons de la propolis sont récolté-durant le mois de mars de l'année 2016-par les apiculteurs de la région de la Mitidja centre. Le poids de la propolis brute est de 100,4 g conservé à froid et a l'abri de la lumière.

1.1.2. Matériel microbiologique

Pour mettre en évidence le caractère antimicrobien de nos extraits, nous avons utilisé 10 souches bactériennes et 2 souches fongiques (**Tab 1**). Certaines souches sont de référence (ATCC) et d'autres ont été isolées cliniquement.

Tableau 1: Origine et références des souches testées.

	Les souches macrobienne	Origine	Gram	Provenance
Souches bactériennes	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	+	laboratoire d'hygiène (Blida).
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	+	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	-	
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	-	
Souches Fongiques	<i>Candida albicans</i>	ATCC2091		laboratoire d'hygiène (Blida).
	<i>Saccharomyces cerevisiae.</i>	Miel		
	<i>Aspergillus sp</i>	/		

ATCC : American Type Culture Collection

1.1.3. Les souris

Les animaux utilisés pour les besoins de l'expérimentation sont des souris de poids moyen d'environ 24 et 29g, provenant de l'animalerie du complexe Antibiotical SAIDL de Médéa.

L'élevage des animaux est fait au niveau de cette animalerie où ils sont acclimatés aux conditions suivantes :

- Une température moyenne variante entre 20-25°C.
- Un cycle photopériodique de 10 heures de lumière/obscurité
- Une humidité relative de 50%.

* Les souris sont hébergées dans des cages solides en aluminium. Ils disposent d'eau du robinet ad libitum et d'une alimentation granulée « O.N.A.B » (49.80% de glucides, 23.5% de protéines, 5% de lipides et 5.7 % de complexe minéral vitaminé).

2. Méthodes

2.1. Récolte

La masse de la propolis récoltée par l'apiculteur par la méthode de raclage est de 100,4g. Elle contient en général des impuretés : débris d'abeilles, bois, etc...) et doit être purifiée avant toute utilisation thérapeutique en passant par les étapes suivantes :

2.2. Purification : les étapes sont illustrées dans la (Fig. 13 Annexe I) commençant par :

- Le lavage dans un bac d'eau froide pour permettre de faire remonter en surface les éléments indésirables.
- Le séchage : Il doit être parfait, pour empêcher les moisissures qui se développeront rapidement au niveau des impuretés incluses dans la résine. Il se fait à 50°C placé à l'étuve pendant 1 :30 min.
- Triage à la pince sous une loupe binoculaire
- La congélation : Les morceaux sont ensuite mis au congélateur pendant 24 heures pour que ce soit possible de la fracasser en petits morceaux avec un marteau.
- Le broyage : La propolis peut alors être broyée immédiatement avec un moulin à café, afin d'obtenir une poudre très fine. Cette poudre de propolis peut être stockée dans un endroit sombre, sec et frais.

2.3. Screening chimique de l'extrait éthanolique de la propolis.

La recherche des groupes chimiques a été réalisée par des réactions chimiques en tubes.

2.3.1. Préparation de l'infuser 5%

Nous avons introduit 5g de la poudre de la propolis dans un erlenmeyer de 250 ml contenant 100ml d'eau distillé bouillante. Nous avons arrêté l'ébullition et fermé avec un verre de montre, après infusion pendant 15min, nous avons filtré et rincé avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir un volume finale de 100ml de filtrat.

2.3.2. Recherche des substances polyphénoliques

a) Les anthocyanes : (selon la méthode du Laboratoire du Département des analyses physicochimiques du SAIDAL).

Nous avons pris 5ml d'infusé auquel on a ajouté 5ml d'acide sulfurique puis 5ml d'ammoniaque. Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, on peut confirmer la présence d'anthocyanes.

b) Les Tanins : (selon la méthode de Diallo (2005))

On introduit 5ml d'infusé dans un tube à essai, puis on lui ajoute 1ml d'une solution aqueuse diluée de FeCl₃ (9%). En présence des tanins, il se développe une coloration bleu noirâtre.

c) Les flavonoïdes : selon la méthode de Diallo (2005)

On ajoute 5ml de l'infusé dans un tube, et on lui ajoute quelques gouttes d'HCL et 2ml de l'ammoniaque, l'apparition d'une phase superficielle jaune lors du versement de l'ammoniaque indique la présence des flavonoïdes.

d) Les Alcaloïdes : (Dohou et al., 2003).

On ajoute 5ml de l'infusé dans un tube, on lui ajoute 2ml de l'HCl et quelques gouttes de Reactif de Dragendorff, la formation d'un précipité rouge indique la présence des Alcaloïdes.

e) Les sucres : (selon le Laboratoire du Département des analyses physicochimiques du SAIDAL)

A 2 ml de l'infusé a été additionné 1ml de la liqueur de Fehling A et 1 ml de la liqueur de Fehling B. L'obtention d'un précipité rouge brique après addition de la liqueur indique la présence de sucres réducteurs.

f) Les saponisides : (Dohou et al., 2003)

On ajoute 5ml de l'infusé dans un tube, en lui ajoute quelques mg de plombe, la formation d'un précipité blanc indique la présence des saponisides.

2.4. Extraction à froid (La Macération)

Elle consiste à mettre en contact direct le solvant avec la poudre de la propolis, durant un temps déterminé à température ambiante, sous agitation continue. Le choix convenable du solvant est très important si le produit doit être utilisé pour la consommation humaine seul le éthanol devrait être utilisé.

La concentration exacte de l'extrait souhaité doit d'abord être décidée. La concentration initiale de la propolis à extraire ne doit pas dépasser 30%, en raison de l'extraction moins efficace ou moins complète à des concentrations plus élevées.

La concentration de l'extrait choisis est 10%, selon le diagramme pour l'extraction utilisant des mesures métriques. (Tab.1 Annex I) (Fig.14 Annexe II).

Mode opératoire

- ✓ Nous avons macéré 50g de la poudre de propolis dans 573 ml d'éthanol 96% sous agitation automatique pendant 8 jours non-stop.
- ✓ Après filtration, le filtrat est évaporé à sec à 50 °C avec un évaporateur rotatif pour obtenir une concrète (extrait sec).
- ✓ Le résidu sec obtenu est pesé pour déterminer son rendement et conservé au frais, dans un flacon sombre bien fermé, pour effectuer ultérieurement les tests phytochimiques.

L'opération de l'extraction par macération de la propolis dans l'éthanol absolu a permis d'obtenir un rendement de 56,64 % d'extrait sec et brut avec la formule suivante :

$$\text{Rendement} = \frac{m0}{m1} \times 100$$

-m0 : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé.
-m1 : Masse en gramme de la poudre de la propolis initiale

2.5. Dosage des polyphénols

2.5.1. Dosage des polyphénols totaux de l'extrait éthanolique de la propolis

Principe : Le Dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique N(H3PW12O40) et d'acide phosphomolybdique (H3PMO12O40). En milieu basique, ce réactif oxyde les groupements oxydables des composés polyphénoliques. Les produits de réduction (oxydes métalliques de tungstène W8O23 et de molybdène Mo8O23) de couleur bleue, présentent un maximum d'absorption à 725 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon. Ainsi, la quantité de polyphénols pour chaque échantillon est déterminée par la projection de la valeur de la densité optique à 725 nm sur un courbe étalon d'un polyphénol standard (acide gallique) réalisée dans les mêmes conditions (Tab 3 Annexe III) (Fig.15 Annexe III). (Gulcin *et al.*, 2005). La quantité des polyphénols a été rapportée en milligramme d'équivalent de l'acide gallique par milligramme de poids sec de l'extrait (mg EAC/mg Ps).

Mode opératoire : à 0,5 ml d'extrait éthanolique de propolis sont ajoutés 0,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu et 0,5 ml d'une solution de 75 mg/ml de Na2CO3. Le mélange obtenu est incubé à température ambiante pendant environ une heure à l'abri de la lumière. L'absorbance est ensuite mesurée au spectrophotomètre à 760 nm. Une courbe d'étalonnage est préalablement réalisée avant l'analyse avec de l'acide gallique dans les mêmes conditions que les échantillons à analyser.

Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait éthanolique de propolis (mg EAG/g EEP).

Préparation de la gamme d'étalonnage

Peser 200 mg d'acide gallique, Les dissoudre dans 100 ml d'éthanol, soit une solution(S1) avec une concentration de 2mg/ml.

Préparation des dilutions comme suit :

On prélève 5ml de la solution mère puis on ajoute 5ml d'eau distillée et l'on obtient la dilution S/2; on Prélève 5ml de la solution S/2 puis on rajoute 5 ml d'eau distillée et l'on obtient la dilution S/4; Refaire la même procédure pour les autres dilutions.

Le blanc est représenté par 5ml d'eau distillée additionné de 0,5ml de Folin- Ciocalteus et 0,5ml de carbonate de sodium à 10 %.

La lecture des absorbances est faite à 760 nm, après agitation et repos d'une heure. La Concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage.

La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($Y = a X + b$) réalisée par l'extrait d'étalon « acide gallique » à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 1 g de propolis brute.

2.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux de l'extrait éthanolique de la propolis

▪ **Principe de dosage :** Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode de (Woisky et Salatino (1998)). Le réactif utilisé est une solution incolore de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$, 20%). Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par ce réactif, entraînant la formation d'un complexe brunâtre qui est absorbé à 420 nm. La comparaison de la densité optique observée à celle obtenue par un étalon de quercétine de concentration connue permet d'évaluer la teneur en flavonoïdes totaux (Tab 4 Annexe 3) (Fig.16 Annexe III).

▪ **Dosage des flavonoïdes totaux:**

Les flavonoïdes totaux sont évalués par colorimétrie. Pour cela 0,5ml d'extrait éthanolique de propolis sont ajoutés 0,5ml de $AlCl_3$ (20%). Une courbe d'étalonnage est élaborée avec des solutions standards de quercétine préparées à différentes concentrations. Le mélange obtenu est incubé à température ambiante pendant environ 10 minutes à l'abri de la lumière. L'absorbance du mélange obtenue est mesurée par un spectrophotomètre UV-visible à 430nm et les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait éthanolique de propolis (mg EQ/g EEP).

▪ **Préparation de la gamme d'étalonnage**

La concentration des flavonoïdes contenus dans les extraits de propolis est calculée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard.

La courbe d'étalonnage ($Y=aX + b$) obtenue avec la quercétine à différentes concentrations pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes en g par g de propolis.

3. Evaluation des activités biologiques

3.1. Evaluation de l'activité anti-oxydante :

Le pouvoir antioxydant de notre extrait a été testé par : la méthode de piégeage du radical libre 2, 2- diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

▪ **Le principe :** Le 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) est défini comme radical libre stable par vertu de la délocalisation de l'électron disponible qui provoque la couleur violette profonde, caractérisée par une absorption. Il réagit avec des groupements amines, les phénols, les acides, les composés hydro-aromatiques, etc... Cette propriété est largement recommandée et utilisé dans la pratique analytique. Quand la solution de DPPH est mélangée à celle d'une substance qui peut donner un atome d'hydrogène ou un électron, alors ceci provoque la forme réduite (1,1-diphenyl-2-(2, 4,6- trinitrophenyl) hydrazine (DPPH₂)) avec la perte de la couleur violette et apparition d'une couleur jaune pâle résiduelle due à la présence de groupement picryl selon la réaction suivante (Fig.17). (Molyneux, P. 2004).

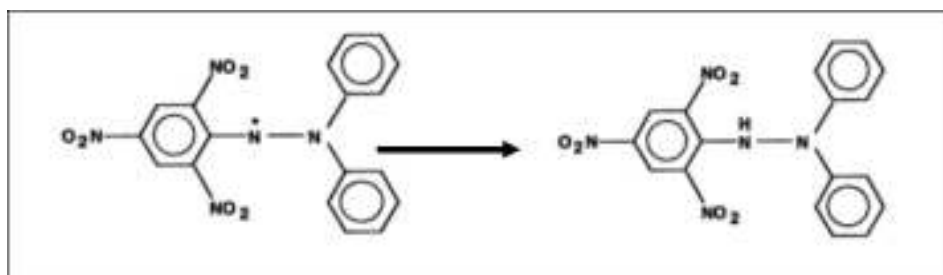


Figure 17 :Réduction du radical libre DPPH en DPPH₂(Molyneux, P. 2004).

La mesure de l'activité anti radicalaire a été testée selon la méthode de **BLOIS**. Le radical libre DPPH (2, 2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) sont solubilisés dans l'éthanol absolu à une concentration de 4 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol Absolut.

Les solutions de nos échantillons sont préparées à des concentrations qui nous permettront d'évaluer l'EC50. Ces intervalles de concentrations ont été déterminés grâce à des tests préliminaires effectués sur chaque échantillon. En parallèle, des solutions des antioxydants de synthèse : vitamine C, ont été préparées avec des concentrations de 0,2mg/ml. Les

concentrations ainsi que les volumes de chaque échantillon sont donnés dans le (Tab. 8 Annexe VIII)

Dans des tubes secs, on introduit différents volumes de chaque échantillon à tester et on complète à 1ml avec de l'éthanol, 1ml de la solution de DPPH est ajouté, après agitation à l'aide d'un vortex, les tubes sont placés à l'obscurité, à température ambiante (25°C) pendant 30 min (fig 18. Annexe IV). Le test est répété 3 fois. La lecture est effectuée par la mesure d'absorbance à 517nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, en utilisant des cuves en quartz. L'activité est mesurée par la relation suivante :

$$\% \text{ activité} = (\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{test}}) / \text{Abs}_{\text{control}} * 10$$

$\text{Abs}_{\text{control}}$: Absorbance à la longueur d'onde de 517 nm de la solution éthanol + DPPH.

Abs_{test} : Absorbance à 517 nm de chaque échantillon

Note : le calcul de la EC50 est effectué, car cette valeur nous permet d'interpréter les résultats de cette méthode.

3.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion sur disque. Sept souches microbiennes (Quatre souches bactériennes et trois souches fongiques) ont été mises à notre disposition gracieusement par laboratoire d'hygiène de Blida. Ce sont des souches en majorité pathogènes pour l'homme, souvent multi-résistantes aux antibiotiques, responsables de plusieurs types d'infections

▪ Micro-organismes utilisés dans les tests antimicrobiens

* *Escherichia coli*

* *Staphylococcus aureus*

* *Bacillus subtilis*

* *Pseudomonas aeruginosa*

* *Candida albicans*

* *Aspergillus sp*

* *Saccaromyces servicia*

3.2.1. Stérilisation du matériel

L'eau distillée, le milieu de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation des suspensions et les disques (9 mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes

3.2.2. Conservation des souches

Les souches ont été conservées à 5°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive). (Fig.19 Annexe V).

3.2.3. Préparation des dilutions d'extrait Ethanolique de la propolis

L'extrait de la propolis a été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives au demi(1/2) comme suit : 10 mg/ml, 5mg/ml, 2,5mg/ml et 1,25mg/ml. Si les extraits doivent être soumis aux essais biologiques, la toxicité du solvant peut également être critique car même en traces, le solvant ne devrait pas empêcher le procédé biologique. Pour cela le DMSO a été choisi comme solvant car les résultats montrent que le solvant est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches microbiennes.

Après homogénéisation, 40µl de chaque mélange sont alors prélevés à l'aide d'une micropipette et déposé sur le disque(Kartal *et al.*, 2003; Gonsales *et al.*, 2005; Choi *et al.*, 2006).

3.2.4. Préparation du milieu de culture

Les milieux de culture appropriés à cette étude sont le milieu Muller-Hinton pour les bactéries et Sabourro ou OGA pour les Champignons.

On fait fondre les milieux dans un bain-marie à 95°C, ensuite ils seront versés aseptiquement dans des boîtes de pétri à raison de $\frac{3}{4}$ du volume total de la boîte, laisse refroidir jusqu'à solidification sur la paillasse.

3.2.5. Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes sontensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24 h, pour optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans 10 ml d'eau distillée stérile, La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à une DO de 0.08 à 0.10 à 625 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

3.2.6. Ensemencement et dépôt des disques :

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension microbienne. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée. Les disques imprégnés d'extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. Finalement, les boîtes de Pétri qui contiennent les souches bactériennes sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C et celles qui contiennent les Champignons. La lecture des antibiogrammes est faite après 72 heures d'incubation à 28°C. (Fig. 20 Annexe V).

3.2.7. Lecture

La lecture s'effectue après l'incubation par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (le diamètre du disque inclus), la lecture se fait à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition.

Non sensible ou résistante : diamètre < 11 mm

Peu sensible: diamètre compris entre 12 à 17 mm.

Sensible ou intermédiaire : diamètre compris entre 18 à 21 mm

Extrêmement sensible : diamètre > 22 mm.

Note : Les souches fongiques sont activées pendant 7 jours dans des boîtes de Pétri à une température de 28°C avant le test

3.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Le test consiste à évaluer l'effet anti-inflammatoire de notre extrait à une concentration de 1000 mg/kg, sur l'œdème des pattes postérieures provoquées par l'injection d'une solution de la Carraghénine à 1 % chez les souris.

La préparation de la solution de la Carraghénine (1%) a été faite par une dilution de 1mg de la Carraghénine dans 100 ml d'eau physiologique. Les souris albinos sont réparties en 2 lots de 5 souris dont le poids corporel est compris entre 20g et 23g.

Mode opératoire

Au temps T0: Administrer aux deux lots des suspensions suivantes:

Lot témoin : chaque souris reçoit 0,5 ml d'eau physiologique.

Lot essai 1 : chaque souris reçoit 0,5 ml de l'extrait 5mg/ml

Lot de référence : chaque souris reçoit 0,5 ml du produit de référence (Clofenal) (Déclofénac de sodium à 2 mg/kg).

Au temps T0+30min : La solution de la Carraghénine à 1% est injectée sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche sous un volume de 0,025ml à tous les souris mis en expérience.

Au temps T0+4h : Après avoir sacrifié les souris, couper les pattes postérieures à hauteur de l'articulation et les pesés sur une balance analytique. (Fig.21 Annexe VI)

3.3.1. Expression des résultats

Calculer la moyenne arithmétique des poids de la patte gauche et la patte droite pour chaque lot. Calculer le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% d'œdème) et (% de réduction d'œdème) par les formules suivantes :

% d'œdème

$$= \frac{\text{moyenne des poids de la patte gauche} - \text{moyenne des poids de la patte droite}}{\text{moyenne des poids de la patte droite}}$$

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ de l'œdème témoin}}$$

Protocol

- Administration des solutions préparées par voie orale.
- Injection de la carraghénine à 1% sous l'aponévrose des pattes gauches.
- Sacrifier les souris avec l'éther diéthylique.
- Coupure des pattes postérieures à la hauteur de l'articulation.
- Pesé des pattes droites et gauches.

1. Screening de l'extrait éthanolique de la propolis.

Ces tests ont été effectués pour mettre en évidence la présence de certains groupements chimiques qui peuvent être responsables des activités biologiques étudiées.

Les résultats des réactions caractéristiques des tanins, flavonoïdes, saponosides, sucres, alcaloïdes et anthocyanes sont réunis dans le (Tab 6 Annex VI).

D'après ces résultats, on note l'absence des anthocyanes et une présence faibles des tanins et des alcaloïdes, une présence moyennement positive des flavonoïdes et une présence nette des saponosides et des sucres réducteurs dans l'extrait de propolis.

2. Extraction à froid (La Macération).

Le rendement en extrait de propolis pure est de 56,64%. Ce résultat est supérieur à celui indiqué dans les travaux réalisés sur la propolis Iranienne (**Shiva et al 2006**), où il a été indiqué des rendements faibles (Tab 2).

Tableau 7 : Résultats du rendement d'extraction

Résultats de notre extrait	Résultats de références
56,64%	8,46% Tehran 7,11 % Isfahn 3,08% Khorasan

2.1. Quantification de quelques composés chimiques de l'extrait éthanolique de la propolis.

2.1.1. Dosage des polyphénols totaux

La concentration de l'extrait éthanolique de la propolis en polyphénols totaux obtenus par la méthode de Folin-Ciocalteu est de 4,33mg EAC/g Ps.

2.1.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes réalisé par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃), a permis d'obtenir une concentration des flavonoïdes totaux de 2,80mg EQ/g Ps dans la propolis. Cette présence des flavonoïdes est la raison principale pour le choix de cet extrait à étudier ces propriétés anti oxydantes et antimicrobiennes.

Compte tenu des résultats obtenus, nous remarquons que la teneur en polyphénols totaux de notre extrait présente une faible valeur qui peut s'expliquer par la dégradation de l'échantillon ou à l'origine de la propolis. Concernant la région de la plaine de la Mitidja, on remarque que

l'échantillon dégradé (2008) présente un rendement plus élevée de 35,77mg EAG/g de propolis (avec un Ecart type de 2,25) (**Ferhoum, 2008**). D'autre part, la teneur en polyphénols totaux de la propolis Brésilienne est de l'ordre de 232 mg EAG/g (avec un Ecart type de 22.3)(**S. M. Alencar et al 2007**) , celle du Portugal, montre des teneurs en polyphénols totaux qui oscillent entre 151 (avec un Ecart type de 0,01) et 329,00 mg EAG /g de propolis (avec un Ecart type de 0,01) respectivement pour la région de Fundao et Borne (**Leandro M. et al 2008**) et l'étude réalisée sur la propolis de la chine indique des valeurs en composés phénoliques qui oscillent entre 85 (Ecart type : 2) et 228 (Ecart type : 8) mg/g de propolis (**Mok-Ryeon Ahn et al 2007**). Ces résultats nettement supérieure à celui qu'on a obtenu.

Nous remarquons aussi que la teneur en flavonoïdes de notre extrait présente une faible valeur, cela peut s'expliquer soit par la dégradation de l'échantillon ou la flore butinée de la région d'étude.

La teneur en flavonoïdes totale décelée chez la propolis Iranienne, est de 77,9 ; 31,1 et 12,2 mg EQ / mg de propolis respectivement pour les échantillons de Tahrán, Isfahan et Khorsan. (**Shiva et al 2006**). Par contre, le travail réalisé sur l'échantillon provenant du Brésil indique une teneur en flavonoïdes de l'ordre de 43 mg EQ / g de propolis brut(**S. M. Alencar et al 2007**), celle provenant de Chine est de 8,3 à 188 mg EQ / g de propolis brute (**Mok-Ryeon Ahn et al 2007**) et celle provenant de la Kerrie allant de 16 – 136 mg EQ / g de propolis (**Katalinic et al 2006**). Ces teneurs sont supérieures à celle qu'on a obtenue par l'échantillon de la Mitidja en 2016.

Cette variation en teneur en flavonoïdes de propolis dépend de la région botanique, dévoilant ainsi que la quantification des flavonoïdes peut être très utile pour différencier entre les échantillons de propolis (**Shigeniro et al 2004**).

Cette différence dans les teneurs peut être expliquée par les conditions environnementales, climatiques et période de collecte ainsi que par les facteurs génétiques et les conditions expérimentales.

3. Résultats des tests biologiques

a. Evaluation de l'activité antioxydant par la méthode de réduction du radical libre DPPH

L'activité antioxydante de l'extrait de propolis, issus de la région de la Mitidja 2016 et en comparant par celle de l'acide ascorbique comme antioxydant de référence, méthode simple mais fortement sensible et plus utilisée, a montré que le extrait éthanolique de la propolis et la vitamine C ont pu réduire le radical libre DPPH. L'activité anti radicalaire de

notre extrait est exprimée en IC_{50} , ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs (**Abdulmajed et al., 2005; Ahmad et al., 2012; Ranga et al., 2009**), il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH.

L'antioxydant standard Vitamine C a montré une activité antioxydante puissante avec une IC_{50} de l'ordre de 0,103 mg/ml. L'extrait éthanolique représente l'extrait le moins actif avec une IC_{50} de l'ordre de $0,3174 \pm 0,0014$ mg/ml.

Les résultats de l'activité de piégeage du radical libre DPPH par notre extrait sont donnés dans (tab.8 Annexe VIII) et illustrés sur la (fig.23 Annexe IX)

Afin de situer l'activité antioxydante de notre extrait, nous avons fait une étude comparative entre son activité et celle d'un antioxydant de référence: la vitamine C. La variation de cette activité en fonction de leurs concentrations est donnée dans (Tab. 4 Annexe) et représentée dans la (Fig.22 Annexe IX)

La capacité antioxydante d'un composé est autant plus élevée que son IC_{50} est petite. Le Tab.9 Annexe VIII montre que l'antioxydant de référence présente la plus faible valeur d' IC_{50} . Cela signifie que leur pouvoir antioxydant est plus important que notre extrait.

L'extrait a un pouvoir anti-radicalaire envers le DPPH, plus la valeur de l' IC_{50} est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant. L'activité antioxydante de notre extrait due à leurs composés phénoliques mais aussi à la présence des autres composés en faibles quantités ou en synergie entre eux. Par rapport aux d'autres études la IC_{50} de cet Extrait est relativement bas que celui trouvée pour l'extrait de propolis de Cuba. Ce dernier contient en plus 4 dérivés de l'acide dicaféoylquinique qui possèdent une puissante activité de « free radical scavenging » (**El-Hadi et Hegazi 2001**). La propolis du Brésil contient des dérivés de l'acide prényl-coumarique, des alcools triterpéniques et des diterpènes, provenant des plantes *Baccharis* sp. et *Araucaria* sp. (**El-Hadi et Hegazi 2001**). Sa teneur en baccharine, artépilline C et drupanine est plus élevée dans la propolis verte. (**Fonseca et al. (2010)**) ont démontré une activité antioxydante très intéressante de la propolis verte. Ses constituants actifs (acide coumarique, acide caféoylquinique, drupanine, artépilline C et baccharine) ont montré un pouvoir de « free radicals scavenger » bien plus important qu'avec les propolis européennes.

En comparant nos résultats d' IC_{50} avec ceux de la littérature (**Leandro et al 2008**) (la propolis du Portugal), on remarque un écart remarquable. Ces derniers ont un pouvoir réducteur plus élevé que nos échantillons ($IC_{50} = 0,009$ mg/ml pour la propolis de Bornes, $IC_{50} = 0,55$ mg/ml pour la propolis de Fundao. Cet écart peut être expliqué par la différence de la nature de la flore botanique de l'Algérie et celle du Portugal (la région influe sur la composition de la propolis) (**Bankova et al. 2000; Shigeniro et al. 2004**) ou bien la race d'abeille est différente

de la nôtre (Sibel et al 2007) et aussi l'âge de la propolis et la méthode utilisée dans l'extraction et d'évaluation.

Son action antioxydante est aussi dose-dépendante. A dose faible, elle est antioxydante mais à dose forte, elle semblerait devenir pro-oxydante. Il faut donc établir une dose efficace pour optimiser son utilisation (Apimondia 2001).

b. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antimicrobien de l'extrait éthanolique de la propolis par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosés solides Mueller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les champignons.

L'activité antimicrobienne de l'extrait a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de sept 7 germes pathogènes dont 4 bactéries et 3 champignons.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de différentes concentrations d'extrait éthanolique de la propolis montre que l'extrait éthanolique de la propolis présente une très faible activité antimicrobienne (Fig. 24 Annexe XIII). Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition de la croissance des souches sont mentionnées dans la (Tab.10 Annex X)

Dans cette étude, l'échantillon de la propolis a montré une activité antimicrobienne faible contre tous les microorganismes examinés. L'effet inhibiteur de la croissance des germes est manifesté sur une seule souche *Bacillus subtilis* à partir d'une concentration mère de 10 mg/ml et de 5mg/ml. Les diamètres d'inhibition sont en fonction de la dose déposée sur le disque, le diamètre d'inhibition est de 12 mm.

Cette activité antimicrobienne est positivement corrélée avec des valeurs des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux de ce produit de la ruche. Il a été démontré que les composés phénoliques influencent les propriétés pharmacologiques et biologiques de la propolis (Gülçin et al., 2010).

La faible sensibilité des microorganismes à l'égard de l'extrait éthanolique de la propolis serait due à la méthode d'extraction, le solvant utilisé. L'utilisation de l'extrait éthanolique de la propolis à différents pourcentages d'éthanol par la méthode des disques montre que le diamètre d'inhibition de la propolis dépend de sa solubilité dans le solvant et par conséquent de sa diffusion dans le milieu. Ce phénomène est signalé dans la littérature par (Tabera et al 2000).

c. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.

Notre étude avait pour but d'évaluer au laboratoire l'activité anti-inflammatoire de l'extrait ethanologique de la propolis. Nous avons testé sur ce modèle notre extrait, à la dose de 1000 mg/kg en administration par voie orale.

Après l'administration de l'eau physiologique, le produit de référence (Clofénal), et notre Extrait à des souris chez les quelles, nous avons provoqué une inflammation, par l'injection de la carraghénine à 1%, dans la surface plantaire des pattes postérieure.

Nous avons mesuré les poids des pattes postérieures en (g) chez les trois lots.

Les résultats obtenus sont indiqués dans (Tab.11 Annexe XIV) et illustrés par (Fig.25 Annexe XIV). Le pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème pour les trois lots sont reportés dans (Fig. 26 Annexe XV).

Après 30min de l'expérimentation, l'administration par la voie orale de la carraghénine, entraîne une augmentation significative du volume des pattes gauches par rapport aux pattes droites, que ce soit pour le groupe des souris témoins, du groupe standard ou celle du groupe traités par notre huile. Ceci montre que la carraghénine induit une réaction inflammatoire engendrant un œdème. La formation d'œdème constaté chez les trois lots est comme suit :

- Lot témoins : formation de 29,07% d'œdème
- Lot traité par le produit de référence (Clofénal®) : formation de 17,68% d'œdème
- Lot traité par l'huile composée : formation de 23,03% d'œdème

Dans les quatre heures qui ont suivi le traitement, nous avons remarqué que la dose de 0,5ml de notre extrait induit un taux de réduction d'œdèmes de 20,71%. Ce taux est inférieur à celui obtenue par le Clofénal®. En effet, ce dernier a provoqué une réduction d'œdèmes de 39,18% (fig. 26 Annexe XV).

Au regard de ces résultats, il est clair que notre extrait possède un effet anti-inflammatoires attribués à son contenu en polyphénols et flavonoïdes.

Les substances naturelles occupent de plus en plus une place de choix en thérapeutique. En effet, la propolis constitue de véritable usine chimique dont il faut tirer le maximum de profit pour le bien être de l'homme.

Notre travail est une contribution à la caractérisation et l'évaluation des activités biologique de la propolis de la région de la Mitidja. Il nous a permis de comprendre que le domaine des produits de la ruche demeure encore un terrain vierge pour de nombreuses recherches scientifiques vue l'instabilité de la qualité des ces produits due aux origines géographiques.

Le screening phytochimique de notre extrait a donné des résultats comme suit :

- Les sucres et les saponosides semblent avoir une présence importante dans notre échantillon.
- La mise en évidence des flavonoïdes a été aussi positive
- La recherche des Tanins et des alcaloïdes a montré leur présence moins importante
- les anthocyanes ont été absents dans l'extrait.

La quantification des composées phénoliques (polyphénols et flavonoïdes) de notre extrait, étaient relativement moins élevés comparant aux du standare (Acide gallique et Quercitine).

L'extraction faite à l'éthanol absolu a donné un rendement de 56,64% et une teneur de polyphénols de 4,33 mg EAC/g Ps. Celle des flavonoïdes réalisé par $AlCl_3$ a donné une teneur 2,80 mg EQ/g Ps.

Le pouvoir antioxydant a donné des valeurs importantes EC_{50} de l'ordre de $0,3174 \pm 0,0014$ mg/ml. Avec une corrélation positive mise en évidence entre les teneurs des extraits en composés phénoliques et le pourcentage d'inhibition de l'oxydation, indiquant ainsi l'implication de ces composés dans cette l'activité antioxydante.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de nos extraits s'est révélée négatives sur toutes les souches sauf *Bacillus* spp (12mm), malgré leur contenance en polyphénols et flavonoïdes.

L'activité anti-inflammatoire a confirmé les propriétés que possède notre extrait de propolis. La concentration testée de 1mg/ml a un taux de réduction de l'œdème.

Enfin et, vu ces résultats, nous concluons que l'extrait issu d centre de la Mitidja ne renferme pas tous les éléments nécessaires pour favoriser une meilleur activité biologique notamment microbiologique. Ceci peut être lié à la région florale.

Par le biais de ce travail, nous espérons avoir apporté notre modeste contribution à la valorisation d'un sous produit de la ruche et, parvenir à mettre à la disposition de la population un produit naturel efficace et peut être accessible.

Au vu des résultats obtenus et tenant compte de la problématique du sujet, il nous semble judicieux d'approfondir le présent travail en donnant les perspectives suivantes :

- ✓ Nous pouvons espérer comme perspective le teste des composés de la propolis algérienne chacun d'eux seul après leur isolation, afin de connaître les éléments les plus actifs
- ✓ il serait possible d'envisager une meilleure valorisation industrielle des produits de la ruche, notamment en Algérie, visant l'utilisation de ressources naturelles, telle que la propolis dans le domaine de l'agro-alimentaire, de la pharmaceutique et de la cosmétique.
- ✓ Notre étude a montré que la propolis algérienne a une composition chimique très variée, ce qui est en relation directe avec la diversité florale du pays, ceci sera comme une perspective pour faire un balayage sur tout le territoire algérien.
- ✓ D'autres études plus approfondies concernant d'autres propolis algériennes sont nécessaires pour déterminer l'activité antimicrobienne de la propolis
- ✓ Au terme de cette étude, nous estimons très intéressent de l'approfondir, en établissant entre autres le profil phénoliques des différents extraits des propolis , purifier leurs constituants et étudier leur structures pour mettre le point sur ceux dotés d'activité biologique.
- ✓ la variabilité des teneurs en ces composés des différents extraits, incite à mieux choisir le solvant et le mode d'extraction.

- A. Raoul, (1992). In Moudir N. Les polyphénols de la propolis Algérienne. Mémoire de Magister en Chimie, Chimie Organique, Université de Mohammed Boudiaf. M'sila. 2004. P03
- A., Braga, F. C (2002). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P16
- Abdulmajed K., McGuigan C. and Heard C. M. 2005. In HARRAR A., Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire de Magister, Biochimie et physiologie experimental, Université Ferhat Abass, Settif. 2012. P42
- Ahmad N., Fazal H., Abbasi B. H., Anwar S. and Basir A. 2012. In HARRAR A., Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire de Magister, Biochimie et physiologie experimental, Université Ferhat Abass, Settif. 2012. P42.
- Alexandare F., 1984. In Moudir N. Les polyphénols de la propolis Algérienne. Mémoire de Magister en Chimie, Chimie Organique, Université de Mohammed Boudiaf. M'sila. 2004. P03
- Alin C., 1996. In Moudir N. Les polyphénols de la propolis Algérienne. Mémoire de Magister en Chimie, Chimie Organique, Université de Mohammed Boudiaf. M'sila. 2004. P03-04
- Amaros, M., Sauvager, F., Girre, L., Cormier, M (1992). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P16
- Ansorge S., Reinhold D., Lendeckel U. (2003). In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P137.
- Apimondia 2001. In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P59
- Apimondia 2001. In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P137.

- Apimondia 2001. In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d’emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l’Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P147
- ASSIE B. 2004. In Rossant A. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. These : Limoge. Pharmacie. 2011. P34.
- Bankova et al 1992 et 1994, In Segueni N., Contribution à l’étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P 10
- Bankova V., de Castro SL., Marcucci MC. 2000. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d’abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M’HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P70
- Bankova V., Marcucci MC., Simova S., Nikolova N., Kujungiev A., Popov S. (1996) In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d’emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l’Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P139.
- Bankova, V., De Castro, S. L., Marcucci, M. C (2000). In Segueni N., Contribution à l’étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P 10
- BIRI.M. le grand livre des abeilles. Paris. Vecchi.
- Bouchareb D., Extraction et analyse de l’extrait alcoolique de la propolis et son utilisation. Mémoire, chimie industrielle, Blida 1996.
- Boukraâ L., Meslem A., Benhanifia M., Hammoudi SM. (2009) In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d’emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l’Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P139.
- Boyanova, L., Kolarov, M., Kilgova, G., Mitov, M (2006). In Segueni N., Contribution à l’étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P16
- Burdock, GA (1998). In Segueni N., Contribution à l’étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P02

- Choi Y.M., Noh D.O., Cho S.Y., Suh H.J., Kim K.M., Kim J.M. (2006). In Neila NEDJI, Effets des acaricides sur l'abeille domestique *Apis mellifera intermissa* et analyse de l'activité antimicrobienne de la propolis et du miel. These en Phisiotoxicologie. Universite Badji- Mokhtar-Annaba. 2015. P19.
- Cizmarik, J., Trupl, J (1976). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P16
- Clément H., 2009. In Rossant A. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. These : Limoge. Pharmacie. 2011. P09-18.
- Clément H., 2009. In Rossant A. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. These : Limoge. Pharmacie. 2011. P35
- Crane, E (1988). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P 10
- Debuyser E. 1984. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa et Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P19
- Dimov, V., Ivanoska, N., Manolova, N., Bankova, V., Nicolov, N., Popov, S (1991). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P02
- Domerego R. (2009) In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P139.
- Donadieu 2008. In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P59-60
- Donadieu 2008. In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P137-139.
- Dr Dubois, 1987. In In Rossant A. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. These : Limoge. Pharmacie. 2011. P35.

- Dohou n., yamni k., tahrouch s., idrissi hassani l.m., badoc a., gmira n., .2003.in Daas Amiour s., etude quantitative des composes phenoliques des extraits de trois varietes de dattes (*phoenix dactylifera l.*) et evaluation *in vitro* de leur activite biologique. Mémoire de Magister en Biochimie appliqué. Université El-Hadj Lakhdar – Batna.
- Diallo A M., 2005. in Daas Amiour s., etude quantitative des composes phenoliques des extraits de trois varietes de dattes (*phoenix dactylifera l.*) et evaluation *in vitro* de leur activite biologique. Mémoire de Magister en Biochimie appliqué. Université El-Hadj Lakhdar – Batna.
- E. S. A (2003). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P 11
- El-Khatib, A. S, Agha, A. M, Mahran, L. G, Khayyal, M. T (2002). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P17.
- Escanu, V., Prahoveanu, E., Cricsan, I., Cioca, A (1981). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P16
- Evandro, A., Nascimento, Leila, C. F. Bezzan (2001). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P14
- Evangelist-Rodrigues, A., Carneiro of Cunha. M (2001). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P14
- Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa et Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P77
- Farseni AP., Aquino-Ferreira R., De Jong D., Bastos JK. Soares AEE. (2009). In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P139.
- fondation.lunedemiel.fr

- Fonseca YM. *Et al.* 2010 In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d’emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l’Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P142.
- forevergreen.eu
- Francisco A Tomas-Barberan., Garcia-Viguera, C., Vit-Olivier, P., Ferreres, F., Thomas Lorente, F (1993). In Segueni N., Contribution à l’étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P 10
- Francisco A Tomas-Barberan., Garcia-Viguera, C., Vit-Olivier, P., Ferreres, F., Thomas-
- Genya G. ; Shuxian H. ; Spivak M. ; James R. ; Lokensgard ; Philip K. Peterson. 2005. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d’abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M’HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008.P21.
- Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d’emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l’Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011 P142
- Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d’emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l’Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P23.
- Ghisalberti, E. L (1979). In Segueni N., Contribution à l’étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P15
- Gonzalez B.G., Martinez-Aguilar G., Hulten K.G. (2005). In Neila NEDJI, Effets des acaricides sur l’abeille domestique *Apis mellifera intermissa* et analyse de l’activité antimicrobienne de la propolis et du miel. These en Phisiotoxicologie. Universite Badji-Mokhtar-Annaba. 2015. P19.
- Grange, J. M, Davey, R. W (1990). In Segueni N., Contribution à l’étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P16
- Greenaway, W., Scaysbrook, T., Whatley, F. R (1990). In Segueni N., Contribution à l’étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P 10-11.

- Gülçin H., Alici A., Cesur M. (2005). In Neila NEDJI, Effets des acaricides sur l'abeille domestique *Apis mellifera intermissa* et analyse de l'activité antimicrobienne de la propolis et du miel. These en Phisiotoxicologie. Universite Badji- Mokhtar-Annaba. 2015. P16.
- Gülçin I., Bursal E., Sehitoglu M.H., Bilsel M., Gören A.C. (2010). In Neila NEDJI, Effets des acaricides sur l'abeille domestique *Apis mellifera intermissa* et analyse de l'activité antimicrobienne de la propolis et du miel. These en Phisiotoxicologie. Universite Badji- Mokhtar-Annaba. 2015. P 52
- Hayashi, K., Komura, S., Isaji, N., Ohishi, N., Yagi, K (1999). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P17.
- Hegazi 1997. In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P 11
- Hegazi AG.2001. In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P142
- Higashi, K. O, De Castro, S. L (1995). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P16
- <http://www.tc.umn.edu>
- Ito, J., Chang, J. F., Wang, H. K., Park, Y. K., Ikegaki, M., Kilgore, N., Lee, K. H (2001). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P17
- Ivanov, T (1980). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P15
- Jean-Prost 2005. In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P59-60

- Justin, O (1996). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P15
- Kartal M., Yıldız S., Kaya S., Kurucu S., Topcu G. (2003). In Neila NEDJI, Effets des acaricides sur l'abeille domestique *Apis mellifera intermissa* et analyse de l'activité antimicrobienne de la propolis et du miel. These en Phisiotoxicologie. Universite Badji-Mokhtar-Annaba. 2015. P19.
- Katalinic V., Milos M., Kulisic T et Jukic M. 2006. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P83
- Kedzia, A (1986). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P16
- Kim MJ *et al.* (2011) In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P139.
- Krell R., 1996. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P14-15.
- Krol, W., Czuda, Z., Scheller, S., Gabry, J., Grabies, S., Shani, J (1990). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P17.
- Lahouel, M., Boulkour, S., Segueni, N., Fillastre, J. P (2004). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P17.
- Lavie 1975. In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P 11

- Le Conte Y., 2002. In Rossant A. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. These : Limoge. Pharmacie. 2011. P32.
- Le Conte Y., 2002. In Rossant A. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. These : Limoge. Pharmacie. 2011. P09-12.
- Le Conte Y., 2002. In Rossant A. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. These : Limoge. Pharmacie. 2011. P34-35.
- Leandro M., Luis G., Diase, José Alberto Pereira, Leticia Estevinho; 2008. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P78
- Leandro M., Luis G., Diase, José Alberto Pereira, Leticia Estevinho; 2008. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P70
- Les sites :
- Lin, S. C., Chung, C. Y., Chian, C. L., Hsu, S. H (1999). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P17.
- Lopez, F. C., Bankova, V., Sforcin, J. M (2003). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P 11
- Lorente, F (1993). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P 10-11.
- M. P. Jean, (1999). In Moudir N. Les polyphénols de la propolis Algérienne. Mémoire de Magister en Chimie, Chimie Organique, Université de Mohammed Boudiaf. M'sila. 2004. P03
- M., Timmerman, B. N (1999). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P 10

- M.Amaros,E.Lurton, J.Boustic, L.Girre, F.Sauvager, M.Carmier, *J.Nat.Prod*, 1994 In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P16
- Maciejewicz et al 2001. In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P 10
- Makashvili 1978. In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P 11-14.
- Maksimova-Todorova, V., Manolova, N., Gegova, G., Serkedzhieva, Y., Uzunov, S.,
- Marc Alain Directeur Apiculteur
- Marchenay et Bérard 2007. In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P60
- Marchenay P. et Bérard L., 2007. In Rossant A. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. These : Limoge. Pharmacie. 2011. P32.
- Marchenay P. et Bérard L., 2007. In Rossant A. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. These : Limoge. Pharmacie. 2011. P09-28.
- Marchenay P. et Bérard L., 2007. In Rossant A. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. These : Limoge. Pharmacie. 2011. P36-38.
- Marcucci MC. *Et al.* (2001) In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P139-141.
- Marcucci, M. C (1995). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P15
- Marcucci, M.; 1995. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P17-18

- Marcucci, 1995. In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P 10
- Matsushige, K., Kusumoto, I. T., Yamamoto, Y., Kadota, S., Namba, T (1995). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P17.
- mbutamasee.afrikblog.com
- Metzner, J., Schneidewind, E. M (1997). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P 11-15.
- Miyataka, H., Nishiki, M., Matsumoto, H., Fujimoto, T., Matsuka, M., Sotah, T (1997). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P02
- Mizuno M. ; linuma M. ; et Kato H., 1987. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P15.
- Mok-Ryeon Ahn , Shigenori Kumazawa , Yumiko Usui , Jun Nakamura , Mitsuo Matsuka , Fang Zhu , Tsutomu Nakayama.,2007. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P78
- Mok-Ryeon Ahn , Shigenori Kumazawa , Yumiko Usui , Jun Nakamura , Mitsuo Matsuka , Fang Zhu , Tsutomu Nakayama.,2007. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P83
- Molyneux, P. 2004. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa et Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P71

- Monzote FL. *et al.* (2011). In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d’emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l’Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P142
- Moreno, M. I. N., Isla, M. I., Sampietro, A. R., Vattuone, M. A (2000). In Segueni N., Contribution à l’étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P17.
- Murad, J. M., Calvi, S. A., Soares, M. V., Bankova, V., Sforcin, J. M (2002). In Segueni N., Contribution à l’étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P02
- Nakajima Y., Tsuruma K., Shimazawa M., Mishima S., Hara H. (2009). In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d’emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l’Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P137.
- Negri, G., Marcucci, M. C., Salatino, A. M., Salatino, L. F (2000). In Segueni N., Contribution à l’étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P15
- Nikolaev, A. B (1978). In Segueni N., Contribution à l’étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P14
- Orsatti CL. Sforcin JM. (2011). In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d’emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l’Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011.
- Orsi RO., Fernades A., Bankova V., Sforcin JM. (2011) In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d’emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l’Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P139.
- Ota, C., Unterkircher, C., Fantimato, V., Shimiz., M. T (2001). In Segueni N., Contribution à l’étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P16

- Ozcan, M (2004). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P16
- Pancheva, S., Marekov, N., Bankova, V (1985). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P16
- Paulino N. *et al.* (2006). In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P137.
- Pepeljnjak, S., Maysinger, D., Jalsenjajk, I (1982). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P16
- Pham- delegue M.-H. In Rossant A. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. These : Limoge. Pharmacie. 2011. P13-16.
- Pham- delegue M.-H. In Rossant A. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. These : Limoge. Pharmacie. 2011. P34-35.
- Popova, M., Bonkova, V., Chimov, A., Sileva, M (2002). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P15
- Ramanauskienè K., Inkèniene AM. (2011) In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P139.
- Ranga R. R., Tiwari A. K., Prabhakar R. P., Suresh B. K., Ali A. Z., Madhusudana K. and Madhusudana R. J.. 2009. In HARRAR A., Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire de Magister, Biochimie et physiologie experimental, Université Ferhat Abass, Settif. 2012. P42.
- RAYNAL-ROQUES A. In Rossant A. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. These : Limoge. Pharmacie. 2011. P28
- Rojas Hernandez, N. H., Candelario, M., Oliveras, E (1993). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P16

- Rossant A. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. These : Limoge. Pharmacie. 2011. P29-30
- S. M. Alencar, T. L. C. Oldoni, M. L. Castro, I. S. R. Cabral, C. M. Costa-Neto, J. A. Cury, P.L Rosalen, M. Ikegaki. 2007. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa et Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P78
- S. M. Alencar, T. L. C. Oldoni, M. L. Castro, I. S. R. Cabral, C. M. Costa-Neto, J. A. Cury, P.L Rosalen, M. Ikegaki. 2007. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa et Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes.2008. P83
- Santos, F. A., Bastos, E. M. A., Uzed, M., Carvalho, M. A. R, Farias, L. M., Moreira, E. S.
- Santos, F. A., Bastos, E. M., Maia, A. B. R. A., Carvalho, M. A. R., Farias, L. M., Moreira,
- Scazzocchio F., D'auria F., Alessandrini D., Pantanella F., 2006. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa et Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P21.
- Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P 11
- Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P02
- Senne A. (2010) In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P139.
- Seo, K. W., Park, M., Song, Y. J., Kim, S. J., Yoon, K. R (2003). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P17.

- Shigeniro Kamazawa.; Tomoka Hamasaka.; Tsutomu Nakayama. 2004. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P83
- Shigeniro Kamazawa.; Tomoka Hamasaka.; Tsutomu Nakayama. 2004. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008.
- Shimizu K., Ashida H., Matsuura Y., Kanazawa K. (2004). In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P137.
- Shiva M. ; Shariatpanahi M. ; Manoochehr H. ; Ahmadkhniha R. ; Samadi N. ; Ostad S. 2006. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P21.
- Shiva.Mohammadzadeh,Mohammad Shariatpanahi.; Manoochehr Hamdi.; Reza Ahmadkhniha.; Nasrin Samadi.; Seyed Nasser Ostad. 2006. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P78
- Shiva.Mohammadzadeh,Mohammad Shariatpanahi.; Manoochehr Hamdi.; Reza Ahmadkhniha.; Nasrin Samadi.; Seyed Nasser Ostad. 2006. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P83
- Sibel Silici.; Mehmet Unlu.; Gülhan Vardar-Ünlü. 2007. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille

- locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P70
- Singleton V. L., Orthofer R. and Lamuela-Raventos R. M. 1999 In HARRAR A., Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire de Magister, Biochimie et physiologie experimental, Université Ferhat Abass, Settif. 2012. P25
 - Tabera, T., Bedascarrasbure, E., Maldonado, L., Alvarez, A., Vangives Horst, A 2000. In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constontine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P127
 - Tosi, Enzo A.; Ciappini, Maria C., Cazzolli, Ampelio F., Tapiz, Luis M. 2006. In Farhoum F., Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Technologie Alimentaire, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdes. 2008. P21
 - Tourneret E. le peuple des abeilles. Paris, Rustica, 2007.
 - Tourneret E. le peuple des abeilles. Paris, Rustica, 2007.
 - Trucheva B., Todorov I., Ninova M., Najdenski H., Daneshmand A., Bankova V. (2010).. In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l'Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P139.
 - Ugur, A., Arslan, T (2004). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constontine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P16
 - Vaissière B., 2002 In Rossant A. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. These : Limoge. Pharmacie. 2011. P38
 - Valcic, S., Montenegro, G., Mujica, A. M., Avila, G., Franzblan, S., Singh, M., Maiese, W.
 - Woisky R.G., Salatino A. (1998). In Neila NEDJI, Effets des acaricides sur l'abeille domestique *Apis mellifera intermissa* et analyse de l'activité antimicrobienne de la propolis et du miel. These en Phisiotoxicologie. Universite Badji- Mokhtar-Annaba. 2015. P16.
 - Yamauchi, R., Kato, K., Oida, S., Kanaeda, J., Ueno, Y (1992). In Segueni N., Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. These en Pharmacochimie. Constontine : Université Mentouri de Constantine, 2011. P17.

- Yang H., Dong Y., Du H., Shi H., Peng Y., Li X. (2011). In Gharbi M., Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d’emploi en Médecine. Thèse. Vétérinaire, l’Université Claude-Bernard - Lyon I. 2011. P137.
- Yrjöen T. 2004, In HARRAR A., Activités antioxydante et antimicrobienne d’extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire de Magister, Biochimie et physiologie experimental, Université Ferhat Abass, Settif. 2012. P46.
- محمد عبد اللطيف 1994 In Moudir N. Les polyphénols de la propolis Algérienne. Mémoire de Magister en Chimie, Chimie Organique, Université de Mohammed Boudiaf. M’sila. 2004. P04
- www.bien-etre-au-naturel.fr
- www.consoglobe.com
- www.iletaitunehistoire.com
- www.memoireonline.com
- www.mielsdanicet.com
- www.ruchersdelorraine.com

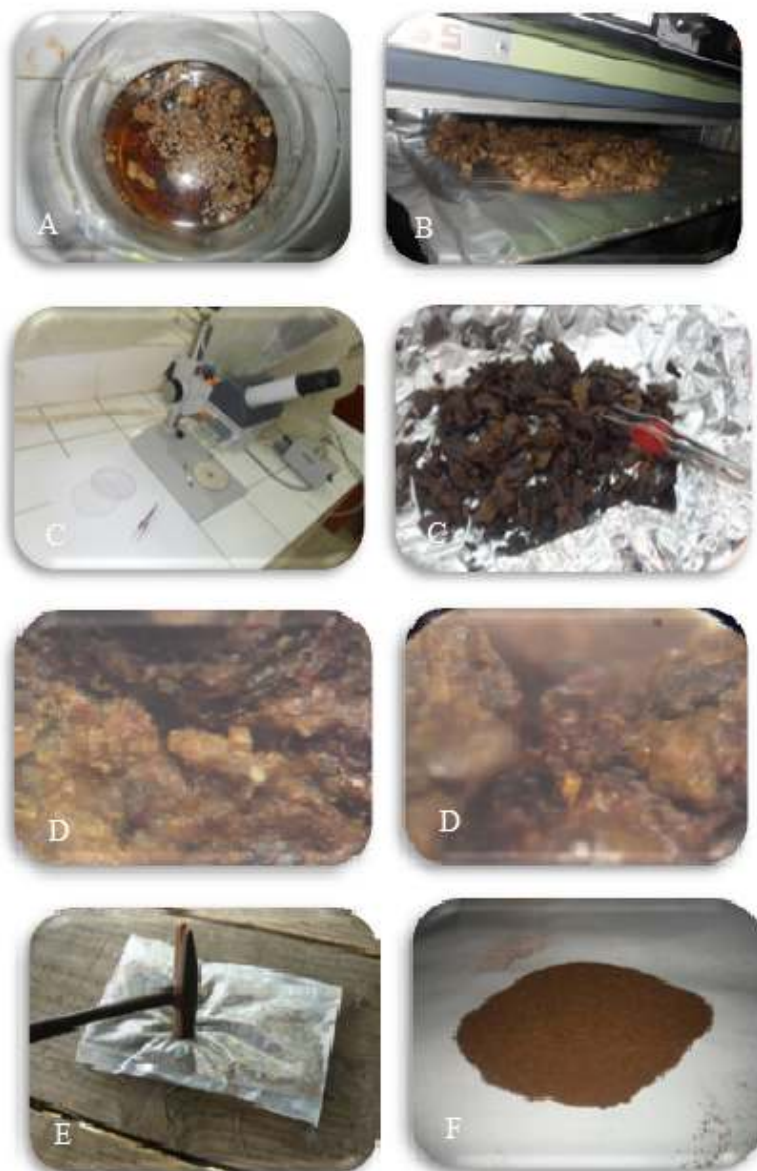


Figure 13 : les étapes de la purification de la propolis brute.

Tableau 2: le diagramme pour l'extraction utilisant des mesures métriques. Proviend du site <http://www.tc.umn.edu>

tincture	100% alcohol		propolis
	grams	or	ml
10%	900		1146
			grams
			100

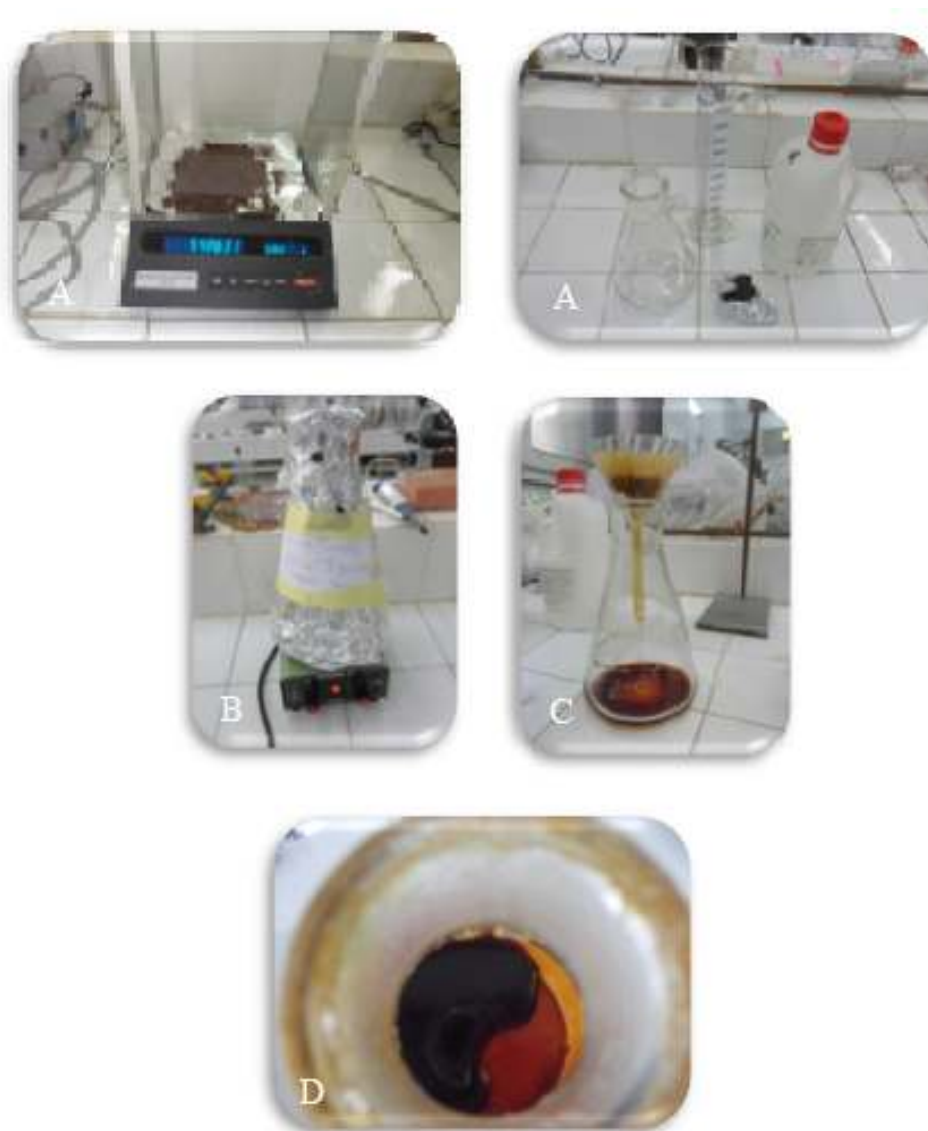


Figure 14 : les différentes étapes de la Macération

Courbe d'talonnage des polyphénols

Tableau 3 : Préparation des dilutions de l'acide gallique pour la réalisation de la courbe standard des polyphénols totaux

Acide gallique C (mg/ml)	0,25	0,125	0,062	0,0312	0,0156	0,0078	0,0039	0,0019
DO	1,309	0,704	0,364	0,204	0,13	0,085	0,075	0,046

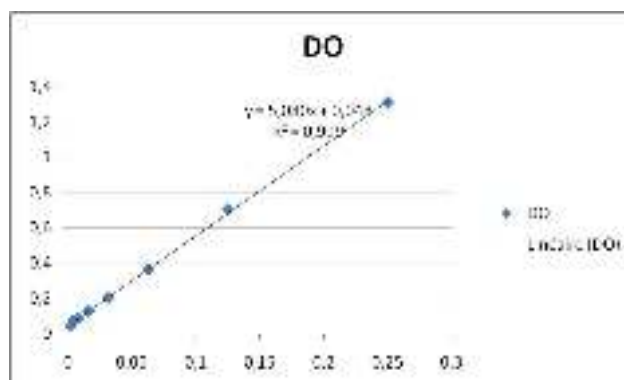


Figure15: Courbe d'étalonnage des polyphénols [DO = f(concentration en acide gallique)]

La courbe d'étalonnage des flavonoïdes

Tableau 4 : Préparation des dilutions de quercitine pour la réalisation de la courbe standard des flavonoïdes.

concentration de quercitine mg/ml	0,4	0,2	0,1	0,05	0,025	0,0125	0,00625
DO	1,375	0,695	0,364	0,253	0,146	0,1	0,081

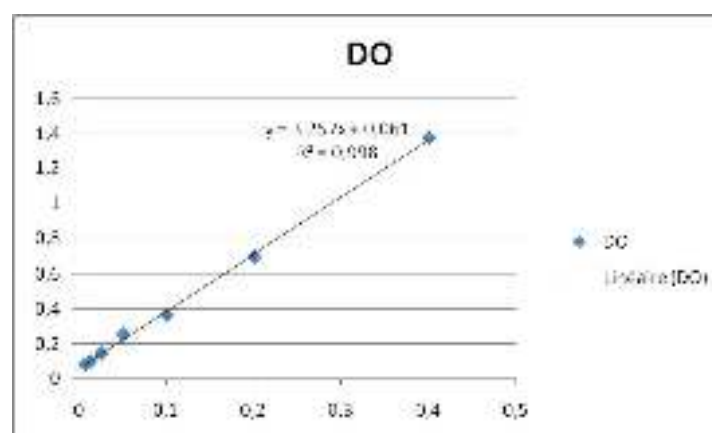


Figure 16 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes [DO = f(concentration en quercitine)]

Tableau 5 : concentration de la solution mère, différentes concentrations des dilutions préparés pour l'activité antioxydante

Solutions	S0	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
Concentrations mg/ml	10	1	0,8	0,6	0,4	0,2	0,1	0,05

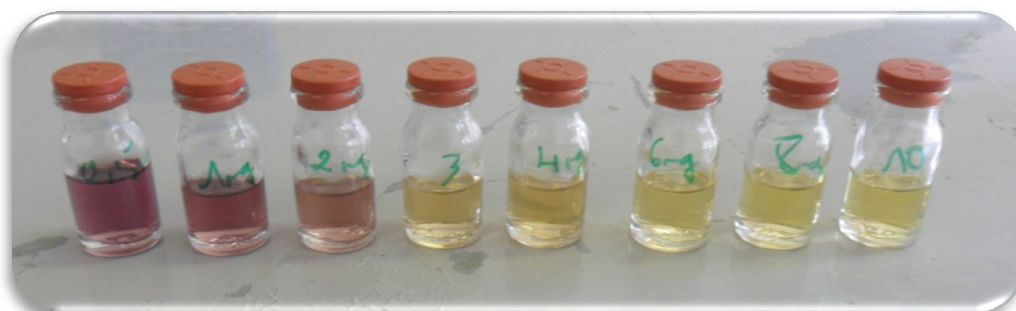


Figure 18 : les dilutions préparés de notre extrait a partir de different concentrations



Figure 19 : les souches microbiennes conservées.

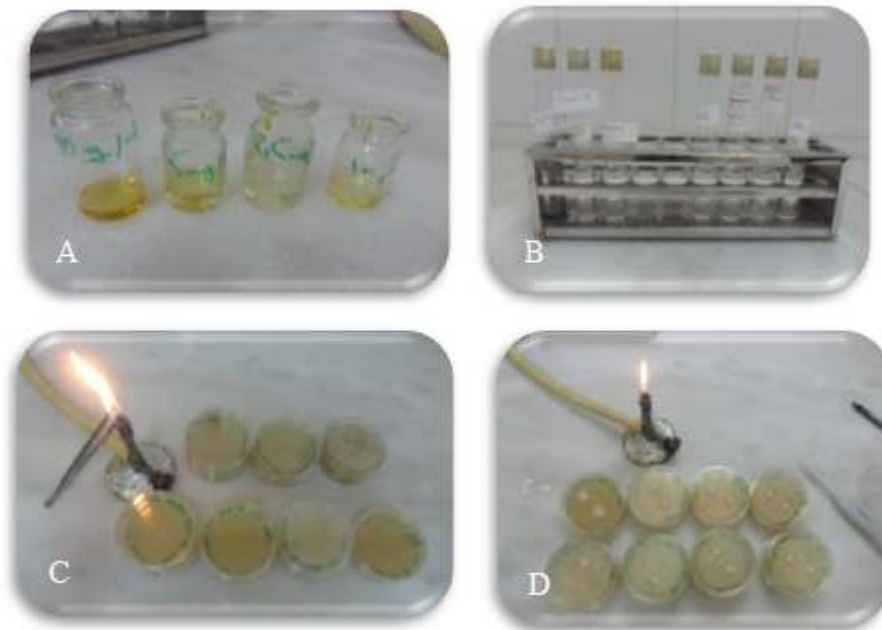







Figure 20: Illustration des différentes étapes de l'activité antimicrobienne citée précédemment **(A)** : Préparation des dilutions d'extrait Ethanolique de la propolis, **(B)** : préparation des inoculum des différents souches, **(C)** : Ensemencement des milieux, **(D)** : Dépôt des disques.



Figure 21: Illustration des différentes étapes de l'activité anti-inflammatoire citée précédemment

Tableau 6 : les résultats obtenu de screening chimique de notre extrait.

Les groupes chimiques	Image	réaction
anthocyanes		Absence

Tanins		-+
flavonoïdes		Présent
Alcaloïdes		-+
sucres		Présent


saponisides		Présent
-------------	--	---------

Tableau 8 : Test de l'activité de piégeage du radical libre DPPH à 517 nm par notre extrait

Concentration en mg/ml	Absorbance à 517 nm	Activité (%)
0,6	0,0918	87,5609756
0,4	0,2396	67,5338753
0,2	0,4586	37,8590786
0,1	0,6041	18,1436314
0,05	0,7009	5,02710027

Tableau 9 : test de l'activité de piégeage du radical libre DPPH à 517 nm des solutions de références vitamine C

[C] en mg/ml	Abs à 517 nm	Activité (%)
0,2	0,1676	77,2899729
0,15	0,2239	69,6612466
0,12	0,3125	57,6558266
0,08	0,4192	43,197832
0,06	0,5006	32,1680217

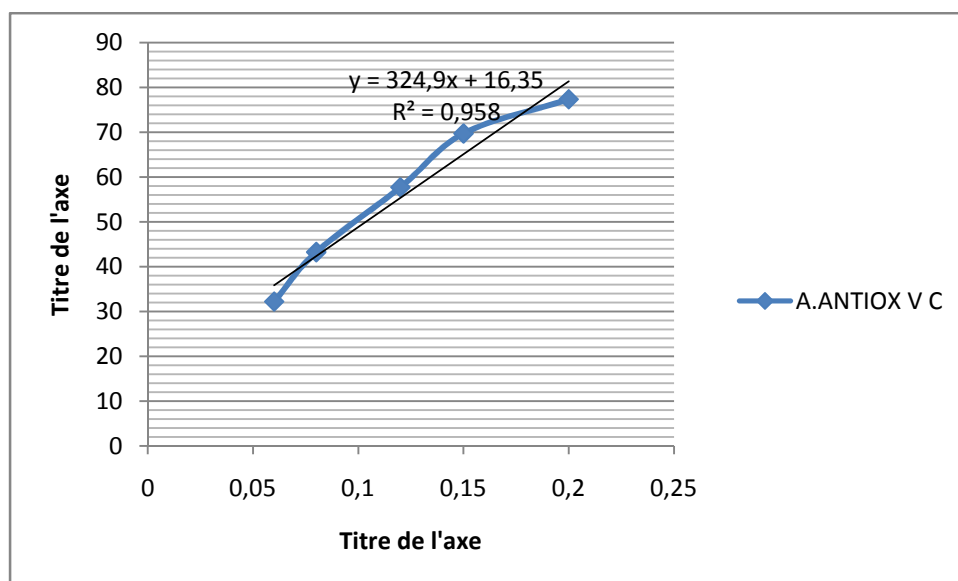


Figure 22: variation de l'activité de piégeages du radical libre DPPH en fonction de la variation de la concentration des antioxydants de référence.

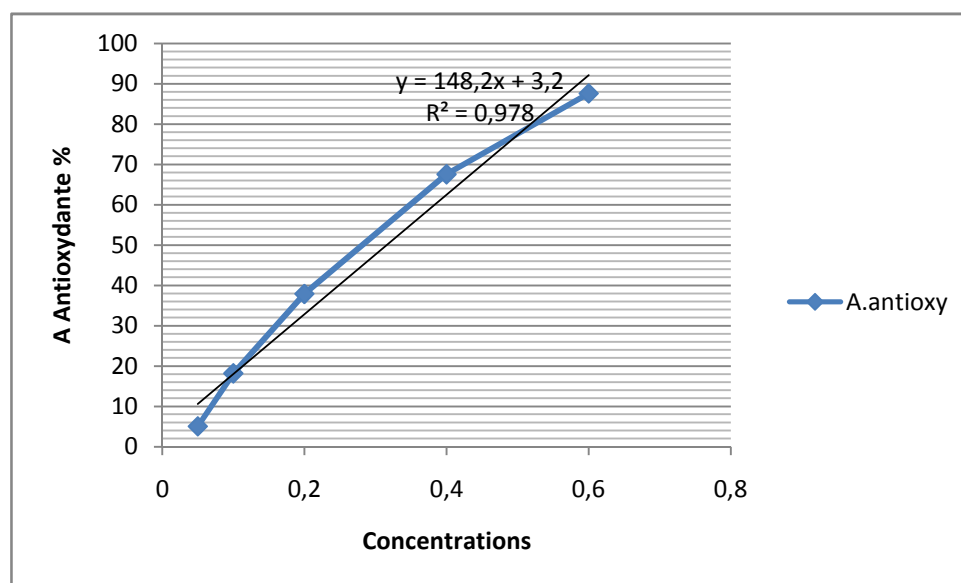
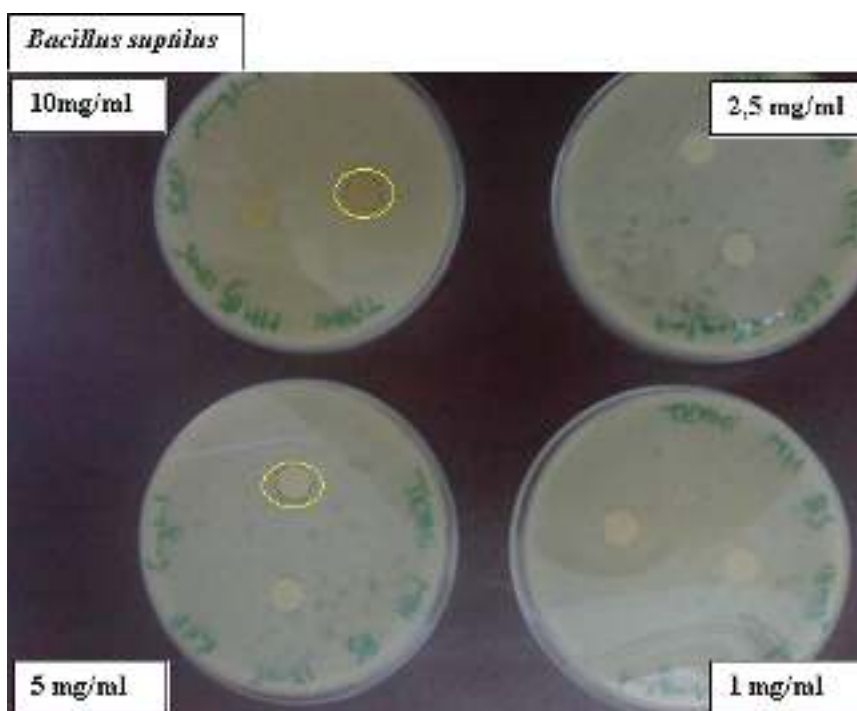
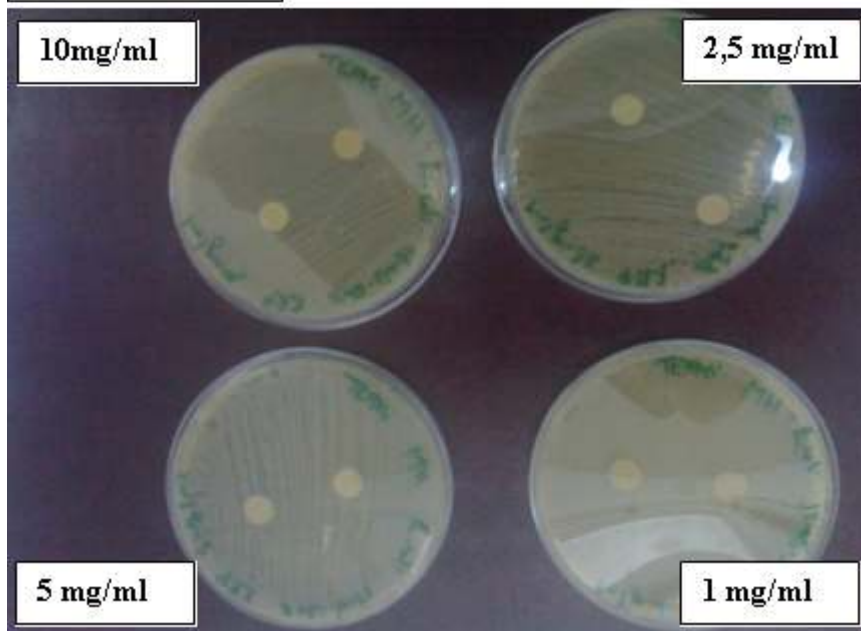
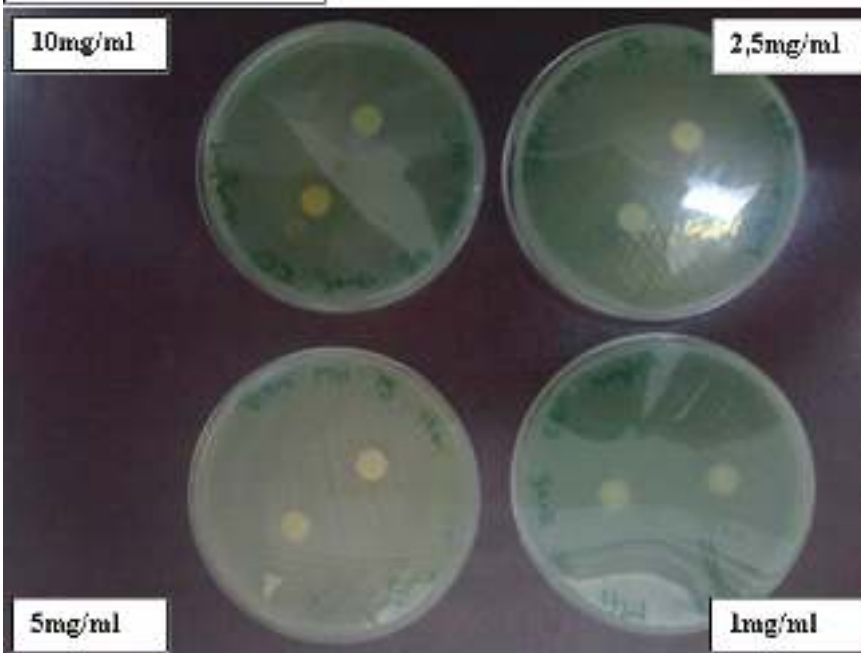


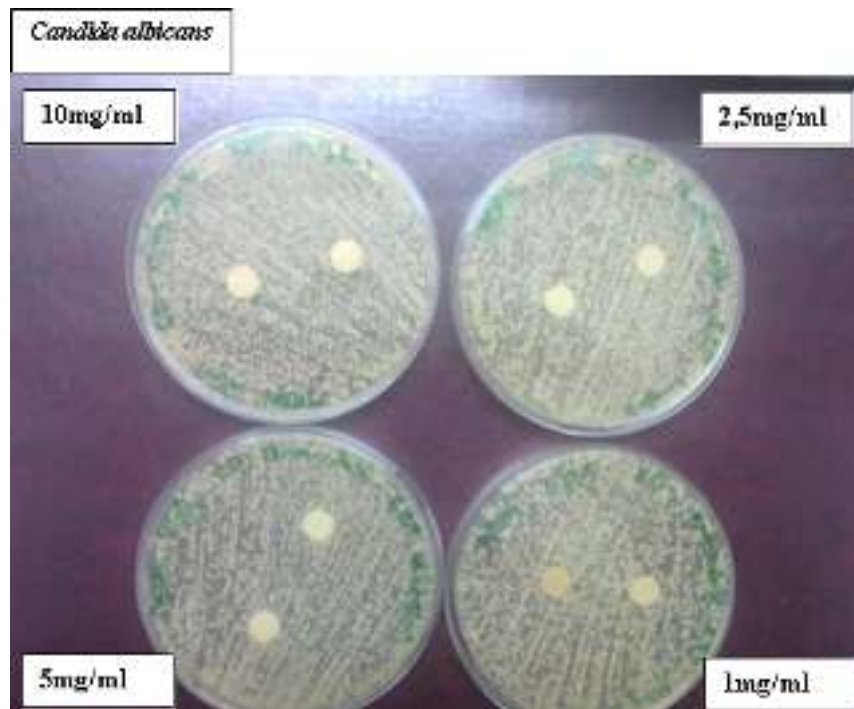
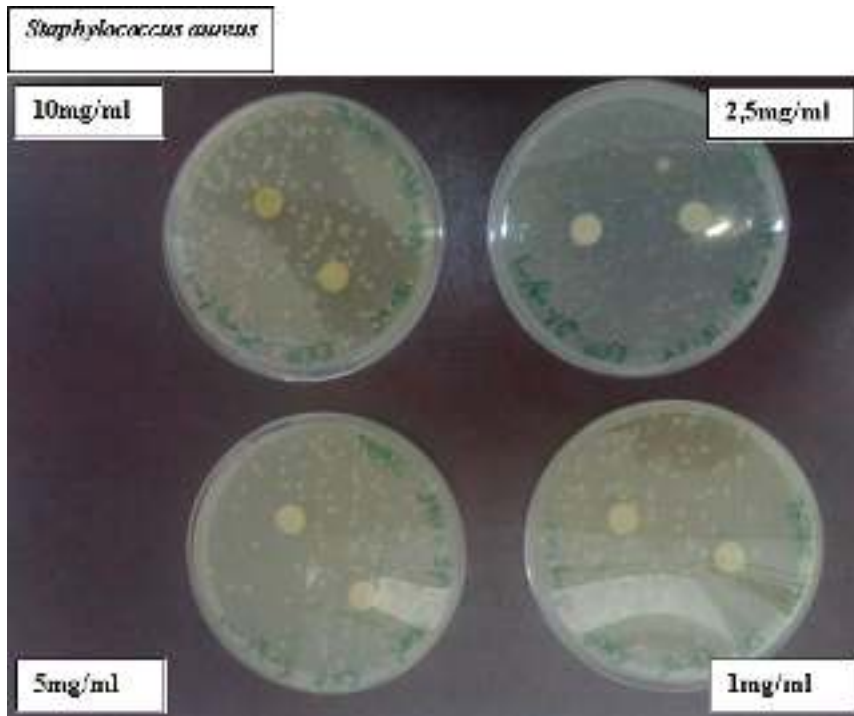
Figure 23 : Variation de l'activité de piégeages du radical libre DPPH en fonction de la variation de la concentration de l'extrait éthanolique de propolis.

Tableau 10. Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits éthanoliques de la propolis pour chaque souche microbienne

Souches	Concentration (mg/ml)			
	1	2,5	5	10
Bactéries				
<i>Escherichia coli</i>	< 9	< 9	< 9	< 9
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 9	< 9	< 9	< 9
<i>Bacillus subtilis</i>	< 9	< 9	12	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	< 9	< 9	< 9	< 9
Champignons				
<i>Candida albicans</i>	< 9	< 9	< 9	< 9
<i>Aspergillus sp</i>	< 9	< 9	< 9	< 9
<i>Saccaromices servicia</i>	< 9	< 9	< 9	< 9



Escherichia coli*Pseudomonas aeruginosa*



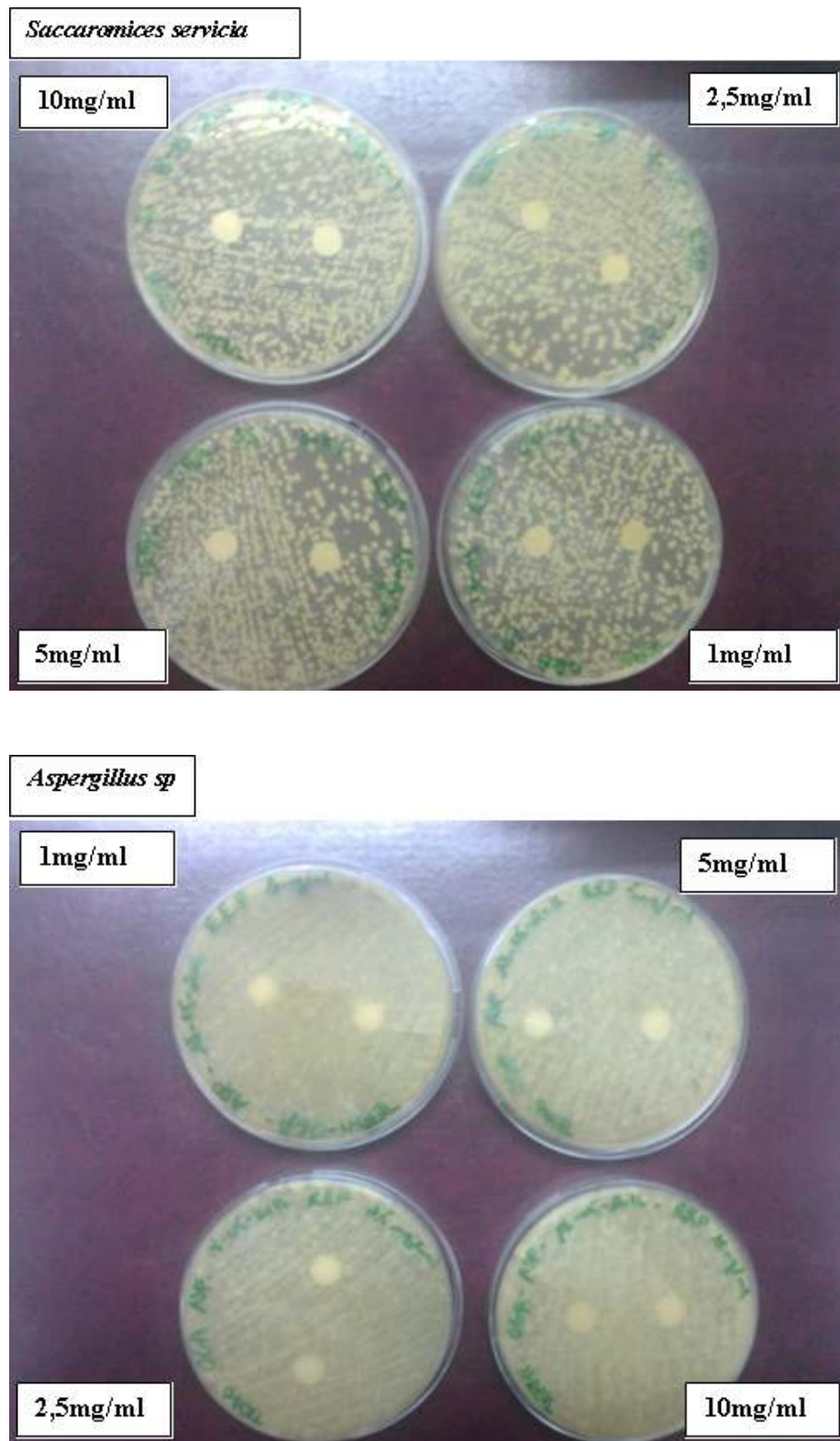


Figure 24 : Les résultats de l'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques de la propolis de la Mitidja.

Tableau 11: Résultats de l'activité anti-inflammatoire

Souris	Témoin (Eau physiologique)		La référence (Clofénal)		Extrait 1mg/ml	
	Poids pattes gauches (g)	Poids pattes droites (g)	Poids pattes gauches (g)	Poids pattes droites (g)	Poids pattes gauches (g)	Poids pattes droites (g)
1	0,2088	0,1839	0,1852	0,1729	0,198	0,157
2	0,2102	0,1705	0,1956	0,1611	0,194	0,167
3	0,2197	0,1683	0,215	0,1701	0,197	0,162
4	0,2474	0,157	0,196	0,1622	0,21	0,165
5	0,2248	0,1821	0,1768	0,154	0,215	0,175
Moyenne	0,22218	0,17236	0,19372	0,16406	0,2028	0,1652
% d'œdème	29,07%		17,68%		23,03%	
% de réduction de l'œdème	0%		39,18%		20,78%	

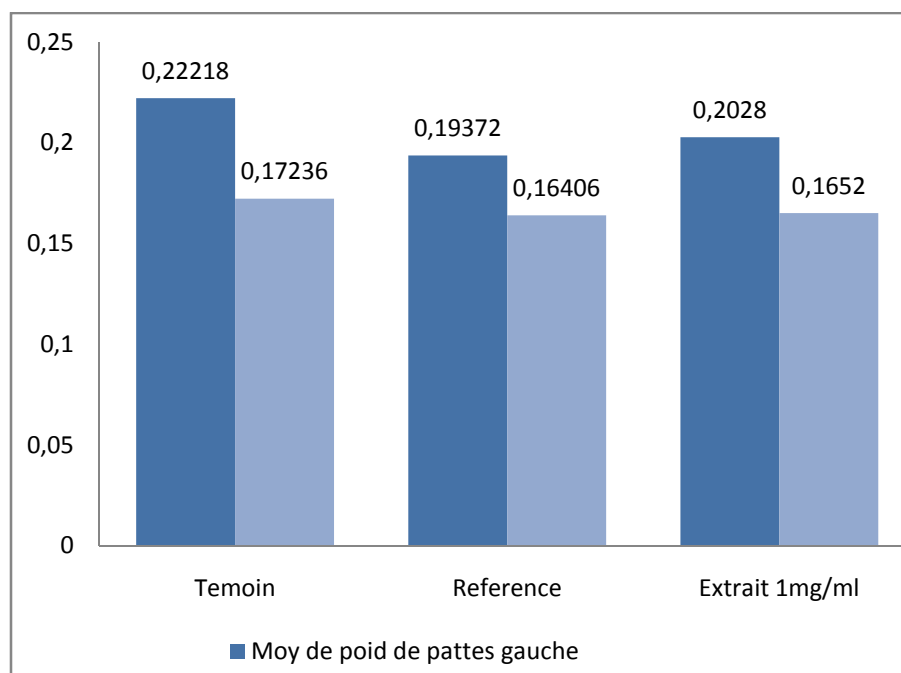


Figure 25 : Moyenne des poids des pattes gauches et droites pour les trois lots

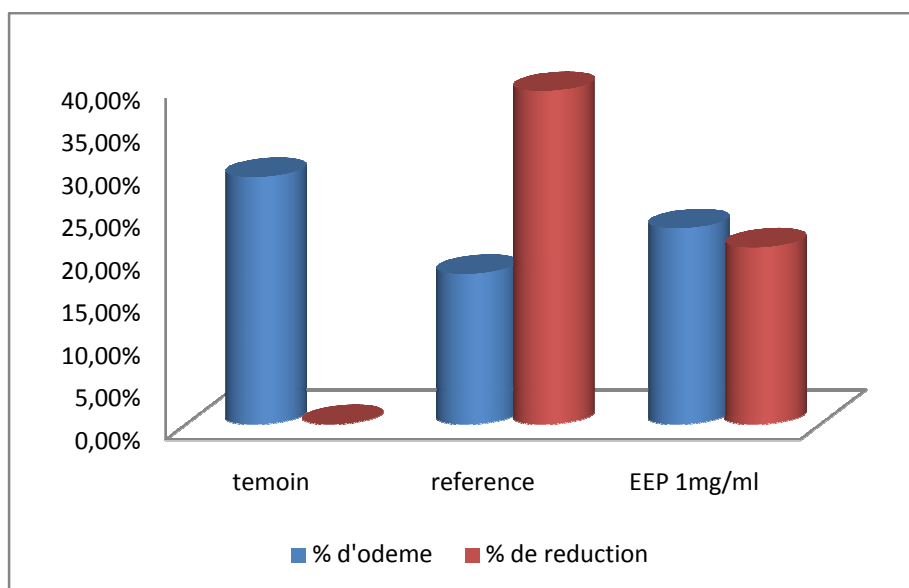


Figure 26: Pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème pour les lots : témoin ; essai1 et référence.